

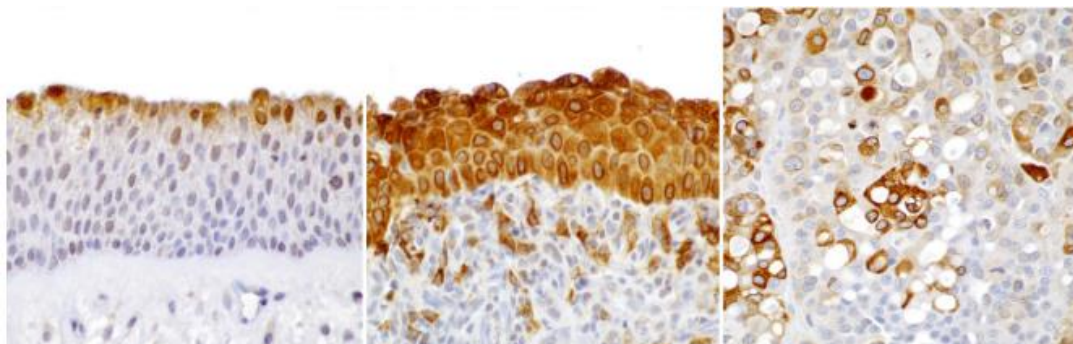
Universitat de Lleida  
Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agrària

LLEIDA, SETEMBRE DEL 2019

REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA

# IMPORTÀNCIA DE LA INHIBICIÓ DE LA COX-2 EN LES CÈL·LULES TUMORALS

TREBALL DE FINAL DE GRAU EN VETERINÀRIA



SANDRA ALEMANY MISERACHS

Tutoria: Jéssica Molín Molina

# Índex

1.	Sigles i acrònims.....	2
2.	Resum; resumen; <i>abstract</i> .....	3
3.	Introducció.....	6
4.	Objectius.....	8
5.	Materials i mètodes .....	9
6.	Paper de la inflamació en l'oncogènesi.....	10
6.1.	Inflamació i metàstasi.....	13
7.	La ciclooxygenasa i les prostaglandines .....	14
8.	Relació de la COX-2 i les PGs amb el càncer .....	16
9.	Expressió de COX-2 i PGs en els tumors dels animals de companyia .....	18
9.1.	En gossos.....	18
	<b>Tumors epitelials .....</b>	<b>18</b>
	<b>Tumors mesenquimals.....</b>	<b>26</b>
	<b>Tumors de cèl·lules rodones .....</b>	<b>29</b>
	<b>Tumors del sistema nerviós .....</b>	<b>35</b>
9.2.	En gats.....	35
	<b>Tumors epitelials .....</b>	<b>35</b>
	<b>Tumours mesenquimals .....</b>	<b>38</b>
	<b>Tumors de cèl·lules rodones .....</b>	<b>38</b>
	<b>Tumors del sistema nerviós .....</b>	<b>38</b>
10.	Tractament de tumors mitjançant inhibidors de COX-2.....	39
10.1.	En gossos.....	39
	<b>Tumors epitelials .....</b>	<b>40</b>
	<b>Tumors de cèl·lules rodones .....</b>	<b>50</b>
	<b>Tumors del sistema nerviós .....</b>	<b>51</b>
10.2	En gats.....	52
	<b>Tumors epitelials .....</b>	<b>52</b>
	<b>Tumors mesenquimals.....</b>	<b>53</b>
11.	Discussió i conclusions.....	54
12.	Bibliografia.....	56

## 1. SIGLES I ACRÒNIMS

AA	Àcid araquidònic
AINE	Antiinflamatori no esteroideu
ASAC	Adenocarcinoma dels sacs anals
CCE	Carcinoma de les cèl·lules escamoses
CCT	Carcinoma de les cèl·lules transicionals
CIMC	Carcinoma inflamatori mamari caní
COX	Ciclooxigenasa
DFI	<i>Disease Free Interval</i> (Interval lliure de malaltia)
EGF	Factor de creixement epidèrmic
EP1 - 4	Receptors de la prostaglandina (1-4)
GF	Factors de creixement (Growth factors)
HSA	Hemangiosarcoma
IC50	Concentració inhibidora màxima mitja
IHQ	Immunohistoquímica
IL-1	Interleucina 1
LB	Limfòcit B
LT	Limfòcit T
MCT	<i>Mast cell tumor</i> (Mastocitoma)
MEC	Matriu extracel·lular
NK	<i>Natural Killer</i>
NPMN	Neutròfils polimorfonuclears
NS	No significatiu
OS	<i>Overall survival</i> (supervivència global)
PFI	<i>Progression Free Interval</i> (Interval lliure de progressió)
PG	Prostaglandina
SI	Sistema immunitari
SR	<i>Survival Rate</i> (Ratio de supervivència)
TMS	Temps mig de supervivència
TNF	Factor de necrosis tumoral
VEGF	Factor de creixement de l'endoteli vascular

## **2. RESUM; RESUMEN; ABSTRACT**

### ***RESUM***

La ciclooxigenasa 2 (COX-2) és un enzim implicat en la síntesi de prostaglandines a partir de l'àcid araquidònic. Les prostaglandines son mediadors inflamatoris amb un paper important en la oncogènesi relacionat amb un augment de la proliferació cel·lular, l'angiogènesi, la capacitat invasió cel·lular i la supressió del sistema immunitari, entre altres. Diferents estudis reporten una sobreexpressió de COX-2 en tumors canins i felins malignes d'origen epitelial, mesenquimal i de cèl·lules rodones, ocasionalment relacionada amb factors pronòstic negatius i menor temps mitg de supervivència. Aquesta sobreexpressió de COX-2 pot resultar útil com a diana terapèutica per animals amb tumors malignes mitjançant l'ús d' antiinflamatoris no esteroideus (AINES), idealment selectius per COX-2. Entre els tumors canins que sobreexpressen COX-2 s'incluen el carcinoma mamari, l' adenoma colorectal, l'adenocarcinoma dels sacs anals, el carcinoma de les cèl·lules transicionals o de cèl·lules escamoses, , el carcinoma nasal de cèl·lules escamoses, l'hemangiosarcoma cutani, l'osteosarcoma, el mastocitoma i el meningioma; i en gats, el carcinoma de les cèl·lules escamoses. En relació al tractament antitumoral mitjançant AINES, els més freqüentment utilitzats són els fàrmacs no selectius com el meloxicam, el piroxicam i el carprofè, i existeixen pocs estudis en quant mitjançant inhibidors selectius com el el deracoxib i el firocoxib. Diferents estudis demostren que l'ús d'AINES en el tractament de diversos tumors malignes canins i felins te efectes positius i pot resultar útil per augmentar el temps mitg de supervivència en aquests pacients.

## ***RESUMEN***

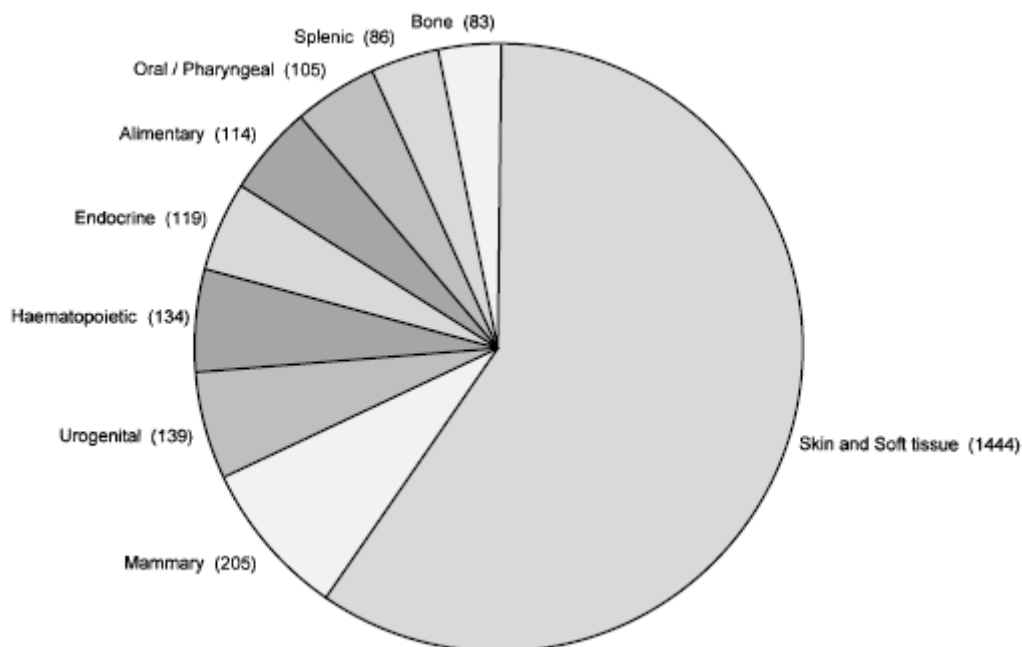
La ciclooxygenasa 2 (COX-2) es una enzima implicada en la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico. Las prostaglandinas son mediadores inflamatorios con un importante papel en la oncogénesis relacionado con un aumento de la proliferación celular, la angiogénesis, la capacidad de invasión celular y la supresión del sistema inmunitario, entre otros factores.. Diversos estudios reportan una sobreexpresión de COX-2 en tumores caninos y felinos malignos de origen epitelial, mesenquimal y de células redondas. Esta sobreexpresión de COX-2 puede resultar útil como diana terapéutica para animals con tumores malignos mediante el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), idealmente selectivos para COX-2. Entre los tumores caninos que sobreexpresan COX-2 se incluyen el carcinoma mamario, el adenoma colorrectal, el adenocarcinoma de los sacos anales, el carcinoma de las células transicionales o de células escamosas, el hemangiosarcoma cutáneo, elosteosarcoma, el mastocitoma y el meningioma; y en gatos, del carcinoma de células escamosas. En relación al tratamiento antitumoral mediante inhibidores de COX-2, los más frecuentemente utilizados son los fármacos no selectivos como el meloxicam, el piroxicam y el carprofeno; y existen pocos estudios en cuanto al tratamiento mediante inhibidores selectivos como el deracoxib y el firocoxib. Diferentes estudios demuestran que el uso de AINES en el tratamiento de diversos tumores malignos caninos y felinos tiene efectos positivos y puede resultar útil para aumentar el tiempo medio de supervivencia en estos pacientes.

## **ABSTRACT**

*Cyclooxygenase 2 (COX-2) is an enzyme involved in the synthesis of prostaglandins from arachidonic acid. Prostaglandins are inflammatory mediators that play an important role in oncogenesis related to an increase in cell proliferation, angiogenesis, cell invasion and suppression of the immune system among other factors.. COX-2 overexpression in several canine and feline malignant tumours of epithelial, mesenchymal or round cell origin have been reported by several authors. Therefore, COX-2 overexpression could represent a therapeutic target for animals with malignant tumours by the use of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs), ideally with selective COX-2 inhibitors. Canine tumours that overexpress COX-2 include breast carcinoma, colorectal adenoma, anal sac adenocarcinoma, transitional or squamous cell carcinoma, , cutaneous hemangiosarcoma, osteosarcoma, mastocytoma and meningioma; and in cats, squamous cells carcinoma. Regarding to antitumoural treatment by NSAIDs, non-selective drugs such as meloxicam, piroxicam and carprofen have been most frequently used, and there are few studies on the treatment with selective COX-2 inhibitors such as deracoxib and firocoxib. Different studies support the fact that the use of NSAIDs for the treatment of several malignant canine and feline tumours can have positive effects and can be useful to increase the median survival time of these patients.*

### 3. INTRODUCCIÓ

El càncer és una de les majors causes de mortalitat citades en gossos i en gats geriàtrics<sup>1</sup>. De fet, s'estima que un de cada tres gossos i un de cada quatre gats tindrà un tumor al llarg de la seva vida tot i que resulta difícil trobar xifres precises per la incidència de tumors en gossos i gats. Un estudi amb gossos realitzat en el Regne Unit demostra que els teixits tous i la pell són les zones més comunes pel desenvolupament de tumors, amb una incidència anual estandarditzada de 1.437 per cada 100.000 gossos, seguit per zones mamàries, urogenitals, limfàtiques, endocrines, alimentàries i orofaríngees (Figura 1). L'histiocitoma cutani caní acostuma a ser el tumor únic més freqüent, seguit pel lipoma, adenoma, mastocitoma, sarcoma de teixits tous i limfoma en gossos<sup>2</sup>. En gats però, el limfoma i altres tumors hematopoiètics són molt més freqüents que en els gossos. Tot i que els tumors de pell i teixits tous són importants en el gat, els tumors malignes com el carcinoma de cèl·lules escamoses i el sarcoma de teixits tous són més freqüents que els tumors benignes. I, finalment, els tumors mamaris en gats són molt menys freqüents que en els gossos però la major part són malignes<sup>1</sup>.



**Figura 1. Incidència dels tumors per 100.000 gossos/any<sup>1</sup>.**  
Extret de Morris J, Dobson J. *Small Animal Oncology*; 2001

Hi ha diferents factors de risc que afecten a la incidència de tumors com l'edat, el sexe, la raça o factors genètics, les infeccions víriques, factors nutricionals, factors hormonals, factors mediambientals,... tot i que està demostrat que la etiologia del càncer és multifactorial.

La inflamació juga un paper important tant en el desenvolupament com en la progressió dels tumors, especialment malignes. Des del 1994 ja hi havia estudis sobre l'expressió de COX-2 i la seva importància en certs tumors, principalment en el càncer colorectal en humans<sup>3</sup>. Més endavant es va començar a estudiar l'expressió en altres tumors, tant en humans com en els animals de companyia, fins que, avui en dia, hi ha nombrosos estudis sobre l'expressió de COX-2, la seva importància en els tumors i l'efecte de la inhibició de COX-2 en els animals de companyia. De fet, l'any 1987 ja s'estudiava la importància del paper de l'àcid araquidònic (AA) en la resposta inflamatòria tot i que encara no s'havia relacionat amb els tumors en aquell moment<sup>4</sup>.

L'AA és un derivat de l'àcid gras essencial, l'àcid linoleic, a partir del qual es sintetitzen que de forma normal es troba esterificat als fosfolípids de la membrana cel·lular. L'alliberació de l'AA es produeix per l'acció de fosfolipases, principalment la fosfolipasa A2, les quals s'activen a través de diferents estímuls fisiològics (hormonals o proteïcs) o patològics (danys mecànics, isquèmia, activació de gens o substàncies promotores de tumors i alguns ionòfors del calci).

L'AA es pot metabolitzar per dues vies: la via de la COX i la via de les lipoxigenases, mitjançant les quals es sintetitzen la major part dels eicosanoides biològicament actius: com els prostanoïdes, els leucotriens, els àcids hidroxi-eicosatetraenoics i les lipoxines.

La via que interessa en aquest estudi és la de la COX, que donarà lloc a la síntesi de diferents mediadors inflamatoris, entre ells la prostaglandina E2 (PGE2). L'acció d'aquests mediadors inflamatoris està relacionada amb un augment de la proliferació cel·lular i disminució de l'apoptosi, un augment de l'angiogènesi tumoral i de la capacitat d'invasió cel·lular i una supressió del sistema immunitari (SI), factors que es veuran més endavant en més detall.

L'efecte de la PGE2 i altres metabolits derivats de l'AA es pot inhibir mitjançant els antiinflamatoris no esteroïdeus (AINEs), ja que són inhibidors de l'enzim COX, fet que podria implicar una reducció de tots els efectes esmentats anteriorment i, en conseqüència, una disminució en la proliferació de les cèl·lules tumorals.



#### **4. OBJECTIUS**

Aquest treball es basa en una revisió bibliogràfica dels objectius de la qual són:

1. Estudiar el paper de l'expressió de la COX-2 i els seus derivats en els tumors d'animals de companyia ja que s'ha vist que hi ha alguns tumors amb una major expressió de COX-2 que d'altres. I en cas que l'expressió fos elevada es vol avaluar quina relació hi ha a nivell de la progressió, invasió, malignitat i mida tumoral entre d'altres factors.
- 2- Determinar si l'expressió de COX-2 és útil com a valor pronòstic en els tumors dels animals de companyia i/o si aquesta expressió es troba relacionada amb altres factors pronòstic coneguts.
3. Avaluar la utilització actual i l'eficàcia del tractament de tumors mitjançant l'ús d'inhibidors de COX, tant selectius com no selectius.

## 5. MATERIALS I MÈTODES

S'ha fet una revisió bibliogràfica utilitzant la informació de diferents bases de dades com PubMed, MedlinePlus, Scholar Google,. També s'ha fet una recerca de llibres de la biblioteca de l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria de la Universitat de Lleida.

En funció dels objectius de cada apartat del treball s'han utilitzat diferents paraules en el cercador com "Inflammation AND cancer in dogs OR cats", "Prostaglandins AND inflammation in dogs OR cats", "COX-2 AND tumors AND dogs OR cats", "COX-2 expresion in [un tumor específic] in dogs OR cats" i "[un tumor específic] AND treatment AND COX-2 in dogs OR cats", "COX-2 inhibitors AND cancer in dogs or cats", "canine [tumor específic] treatment AND COX-2", entre d'altres.

Les paraules clau de la cerca sempre s'han buscat en anglès pel gran ampli ventall de resultats que suposa fer-ho en aquest idioma. Al començament es va centrar la recerca en revisions bibliogràfiques i se'n va trobar una del 2011 de M. Doré "Cyclooxygenase-2 Expression in Animal Cancers" molt completa. A partir d'aquí es va centrar la recerca en articles publicats a partir del 2011 per descobrir nous articles i estudis que permetessin fer un gran recull de dades fins a l'actualitat.

S'han inclòs en la recerca estudis pre-clítics, estudis clínics, articles i revisions bibliogràfiques de revistes científiques i llibres.

A la pàgina de dades PubMed s'ha limitat el filtre d'*Species* a "*Other animals*" i el de dates de publicació des del 2011 fins l'actualitat. A Scholar Google només hi ha disponible el filtre de dates de publicació i també s'ha activat com a la pàgina PubMed.

Algunes recerques mostren molts resultats, per exemple "Inflammation AND cancer in dogs OR cats", que en mostra 142.808. Cal tenir en compte que la inflamació i el càncer han sigut uns temes molts estudiats des de fa anys, per tant en aquest tipus de cerca s'han fet servir més els llibres de la biblioteca de la Universitat de Lleida ja que són una font d'informació general molt fiable. En canvi, en temes més específics com en els punts 9 i 10 del treball, per exemple "COX-2 expresion in glioma in dogs", mostren molt pocs resultats i, per tant, s'ha fet una recerca més exhaustiva a les bases de dades científiques com PubMed o Scholar Google.

La gestió de les referències bibliogràfiques que formen part d'aquest treball s'han realitzat mitjançant el programa Mendeley, una aplicació de gran utilitat que permet la importació, visualització de documents i la creació de referències bibliogràfiques.

## 6. PAPER DE LA INFLAMACIÓ EN L'ONCOGÈNESI

La presència de leucòcits en els tumors va ser observada per primera vegada al segle 19 per Rudolf Virchow (1821 – 1902). Actualment el paper de la inflamació en la formació de tumors està generalment acceptat i s'ha fet evident que un estat inflamatori crònic és un component essencial present en la majoria de tumors, especialment malignes, tot i que encara no s'ha demostrat una relació causal directa. A més, només una minoria de càncers estan vinculats a mutacions germinals, mentre que la gran majoria (90%) es troben vinculats a mutacions somàtiques i a factors ambientals i moltes d'aquestes causes i els factors de risc s'associen amb alguna forma d'inflamació crònica<sup>5</sup>. Tot i que la inflamació crònica juga diferents papers en el desenvolupament i progressió dels tumors, no en tots els casos un estat inflamatori crònic es relaciona amb un augment del risc de desenvolupar tumors sinó amb una reducció de la mida dels mateixos, derivada de l'eliminació de cèl·lules neoplàsiques per part de les cèl·lules inflamatòries<sup>6</sup>.

La inflamació és la resposta del SI a una infecció o lesió. Mentre la inflamació aguda té generalment com a objectiu l'eliminació de l'agent nociu seguida de la restauració de l'estructura i funció del teixit, la inflamació crònica presenta efectes nocius i es troba implicada en la patogènesi de malalties cròniques com ara l'artritis, el càncer -com hem comentat-, les malalties neurodegeneratives i les malalties cardiovasculars<sup>7</sup>.

La inflamació crònica contribueix en certa forma al desenvolupament de tumors donat que proporciona unes condicions favorables mitjançant la producció d'una gran quantitat d'agents reactius en forma de radicals lliures d'oxigen. Aquests radicals lliures, a més de produir danys a les membranes i modificacions proteiques, tenen la capacitat de produir danys en l'àcid desoxiribonucleic (ADN) donant lloc a mutacions que poden fer que les cèl·lules tumorals adquireixin resistència a l'apoptosi i la capacitat de proliferar de manera descontrolada. A més, els mecanismes que es produeixen en el procés inflamatori faciliten l'alliberació de factors de creixement i, per tant, la proliferació i promoció del càncer es veuen accelerats. Per un altra banda, en el teixit tumoral es pot crear un ambient àcid i d'hipòxia que porta a la mort cel·lular. En resposta a aquest fet, l'organisme desencadena l'activació d'una cascada de senyals que porten a la reparació i regeneració de teixits, permetent sobreviure a les cèl·lules tumorals. A més, les cèl·lules immunes presents en el tumor alliberen una sèrie de citocines proinflamatòries induint un procés inflamatori secundari que promourà encara més el desenvolupament del càncer<sup>8</sup>.

Els càncers infiltratius provoquen una inflamació crònica a l'organisme, provocant ferides que no es curen mai. De fet, en pacients amb càncers avançats, aquesta inflamació acostuma a ser tant extensiva que causa fins i tot signes sistèmics i símptomes com anèmia, fatiga i caquèxia. Aquest tipus d'efectes s'anomenen síndromes paraneoplàsics i, ocasionalment, poden representar la primera manifestació clínica d'alguns tumors malignes, sent per tant la seva detecció clau per a un diagnòstic precoç.

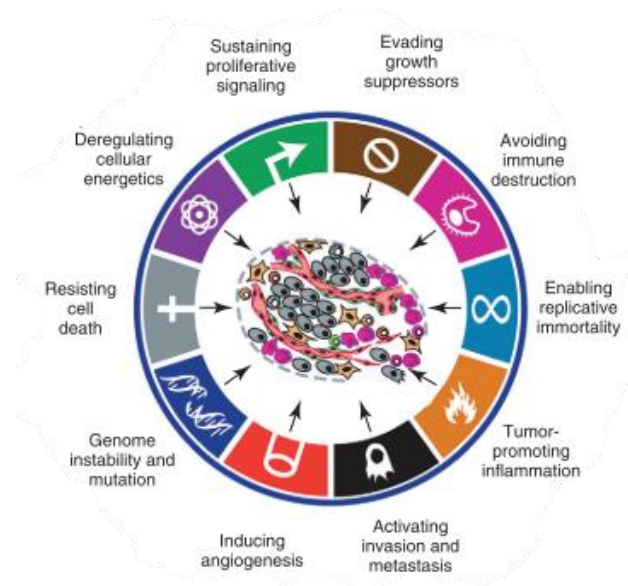
- **Efectes sistèmics:**
  - Caquèxia en múltiples tipus de tumors i ulceracions gastroduodenals (mastocitoma i gastrinoma), principalment a causa de l'acció de TNF alpha (inflamació).
  - Febre produïda per mediadors de la inflamació.
- **Efectes hematològics:** Anèmia (per malaltia crònica), hipergammaglobulinèmia (mieloma i limfoma), eritrocitosi (tumors renals/hepàtics, limfoma,...), trombocitopènia (limfoma, mastocitoma, hemangiosarcoma,...) i leucocitosi neutrofílica.
- **Efectes endocrins:** Hipercalcèmia (limfoma, tumors mamaris, timoma,...), hipoglucèmia (insulioma, tumor hepàtic, limfoma, tumors mamaris,...).

- **Manifestacions cutànies:** Alopecia (carcinoma pancreàtic en gats), enrogiment (mastocitoma i feocromocitoma), dermatofibrosi nodular, eritema/dermatitis necrolítica, ...
- **Efectes renals:** Glomerulonefritis/síndrome nefròtic (Mieloma múltiple,...)
- **Efectes neurològics:** Miastènia gravis (timoma, osteosarcoma,...), neuropatia perifèrica (insulinoma), ...
- **Altres:** Osteopatia hipertròfica

Per altra banda, els estudis que s'han fet en animals demostren que les cèl·lules inflammatòries modifiquen el microambient dels tumors locals provocant la majoria d'elements claus de la malignitat del càncer<sup>9</sup>.

Aquests efectes poden provenir de les interaccions directes entre les cèl·lules inflammatòries i les cèl·lules tumorals, o dels efectes indirectes entre les cèl·lules inflammatòries i altres cèl·lules estromals residents, especialment fibroblasts associats al càncer i cèl·lules endotelials.

La inflamació pot contribuir en molts dels factors involucrats en l'adquisició de les diferents característiques de malignitat associada al càncer (Figura 2) i descrites a continuació.



**Figura 2. Els hallmarks del càncer**

*Extret de Withrow SJ, Vail DM, Page RL. Small Animal Clinical Oncology; 2013.*

1. **Alliberació de factors que promouen la proliferació:** els leucòcits infiltrats i les cèl·lules estromals activades són els encarregats de secretar una gran varietat de factors de creixement, com per exemple el factor de creixement endotelial (EGF- de l'anglès *endotelial growth factor*), i de proteases les quals poden alliberar factors de creixement de la matriu extracel·lular (MEC).
2. **Insensibilització dels supressors de creixement:** com hem mencionat, el creixement de les cèl·lules epitelials és suprimit per les interaccions cèl·lula-cèl·lula i cèl·lula-MEC. Les proteases alliberades per les cèl·lules inflammatòries poden degradar les molècules que coordinen aquestes interaccions. Provocant així, un creixement incontrolat.

3. **Inestabilitat genòmica i mutació:** hi ha diferents mecanismes que poden provocar la inestabilitat genòmica com la pèrdua de telòmers del DNA, la inactivació de gens supressors de tumors o diferents defectes que afectin el DNA.
4. **Immortalitat replicativa:** en la genètica, una cèl·lula té un nombre limitat de replicacions anomenat *hayflick límit* i quan aquest límit es supera, s'indueix la senescència replicativa. Aquestes cèl·lules no són capaces de replicar-se ni de morir-se però experimenten canvis genètics importants caracteritzats per l'erosió dels telòmers. Els tumors sòlids adquireixen la immortalitat predominantment mitjançant l'activació del sistema enzimàtic de telomerasa i el conseqüent manteniment de la integritat dels telòmers.
5. **Resistència a la mort cel·lular:** el despeniment de cèl·lules epitelials de les membranes basals i de les interaccions cèl·lula – cèl·lula pot conduir a una forma particular de mort cel·lular anomenada *anoikis*. Se sospita que els macròfags associats a tumors poden prevenir l'*anoikis* mitjançant l'expressió de molècules d'adhesió com les integrines. Hi ha diferents mecanismes pels quals una cèl·lula pot crear resistència a l'apoptosi: La variació entre el balanç de proteïnes pro-apoptosi i anti-apoptosi, la reducció de la funció *caspase* i el bloqueig de la senyalització del receptor de la mort cel·lular<sup>10</sup>.
6. **Reprogramació metabòlica:** fa anys, Otto Warburg va observar que les cèl·lules cancerígenes utilitzaven mecanisme glucolítics (anaeròbics) enlloc d'oxidatius (aeròbics) per generar l'energia, fins i tot en condicions d'oxigen normals o elevades. Aquesta particularitat s'anomena *efecte Warburg*.
7. **Inducció de l'angiogènesi:** les cèl·lules inflammatòries alliberen nombrosos factors que poden estimular l'angiogènesi com l'EGF.
8. **Inflamació crònica:** la presència de la inflamació en el càncer s'ha observat des dels primers estudis que es van fer fa més de 20 anys. Per exemple l'estudi de Dvorak el 1986<sup>11</sup>, en què descrivia els tumors com a "ferides que no es curen mai" que proporcionava una síntesi per a l'observació recurrent que els tumors sovint eren infiltrats per cèl·lules inflammatòries innates (granulòcits, histiòcits i macròfags) i les adaptatives (limfòcits) del SI.
9. **Evasió de la destrucció del SI:** es creu que una varietat de factors solubles alliberats pels macròfags i altres cèl·lules estromals contribueixen al microambient immunosupressor dels tumors que afavoreixen el reclutament de cèl·lules reguladores immunosupressores o suprimen la funció de CD8+ de les cèl·lules T citotòxiques. Aquests macròfags produeixen citocines que promouen l'angiogènesi, la proliferació dels fibroblasts i la deposició de col·lagen, els quals els tres s'observen en càncers invasius. A més, semblen suprimir les respostes immunològiques efectives dels hostes a les cèl·lules cancerígenes mitjançant diferents mecanismes, molts dels quals encara son desconeguts<sup>9</sup>.
10. **Capacitat d'invasió i metàstasi:** les proteases alliberades pels macròfags promouen la invasió dels teixits remodelant la MEC, mentre que factors com el factor de necrosi tumoral (TNF) i l'EGF poden estimular directament la motilitat de les cèl·lules tumorals.

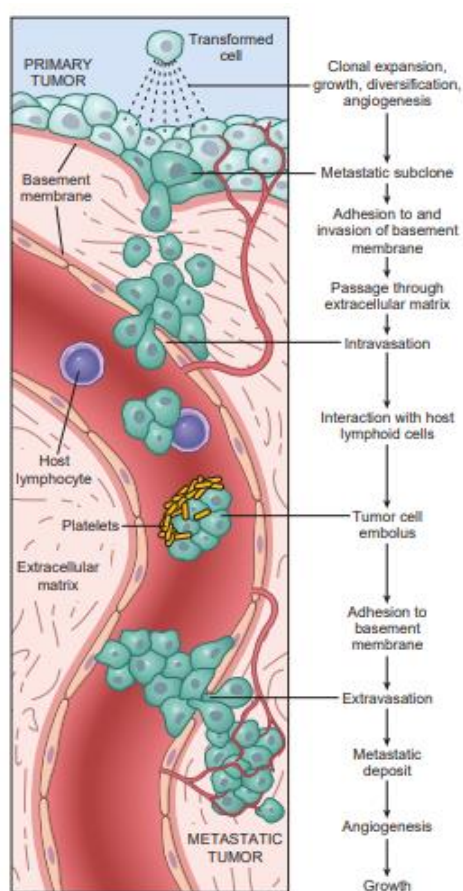
La inflamació està estretament relacionada amb la progressió del càncer a través de l'angiogènesi, la inhibició de l'apoptosi i la proliferació i invasió de les cèl·lules tumorals. Per tant, la inflamació induïda per diferents mediadors, entre ells els derivats de l'AA sintetitzats per la via de la COX, poden tenir un paper molt important en la gènesi i progressió tumoral<sup>12</sup>. A més, la presència de cèl·lules inflammatòries en zones neoplàsiques poden promoure, enlloc d'eliminar, les cèl·lules cancerígenes<sup>13</sup>.

Els mediadors de la inflamació, com ja hem comentat a l'apartat anterior, són petites molècules lipídiques (prostaglandines, leucotriens i tromboxans), aminoàcids modificats (histamina i serotonina) i petites proteïnes (citoquines, factors de creixement, interleuquines,...) que representen una informació específica destinada a cèl·lules capaces d'utilitzar aquesta informació gràcies a la presència de receptors específics a la seva membrana plasmàtica.

## 6.1. Inflamació i metàstasi

Des d'una perspectiva clínica, la metàstasi, és l'aspecte més clínic més crític relacionat amb els tumors malignes, ja que el 90% de la mortalitat en càncers està provocada per aquest factor i hi ha estudis recents que demostren una connexió entre les cèl·lules cancerígenes, el SI i les cèl·lules inflamatòries<sup>14</sup>.

El procés de la metàstasi es pot dividir en 4 fases (Figura 3):



La primera d'aquestes està relacionada amb la transició epitelial-mesenquimal on les cèl·lules adquireixen un caràcter que incrementa la seva motilitat i permet la invasió de la membrana basal. La pèrdua de l'expressió d'E-cadherina (principal molècula d'adhesió cel·lular) es concep com un esdeveniment clau en la transició epitelial-mesenquimal.

En el segon pas, les cèl·lules canceroses s'introdueixen en vasos sanguinis i limfàtics. La inflamació pot promoure això a través de la producció de mediadors que augmenten la permeabilitat vascular.

A continuació, se segueix el tercer pas, on les cèl·lules que provoquen les metàstasis subsisteixen i recorren la circulació. La invasió està regulada per PG (que es produeixen de forma dependent de COX-2 i actuen a l'epiteli), per citoquines i per NPMNs. La migració de cèl·lules que inicien la metàstasi no és aleatòria i està dirigida per gradients de quimiocina detectats a través de proteïnes que es troben a la superfície d'algunes cèl·lules com CXCR4, CCR4, CCR7, CCR9 i CCR10.

**Figura 3. Cascada de la metàstasi**

Extret de Robbins, S., Cotran, R., Kumar, V., Abbas, A. and Aster, J. *Pathologic basis of disease*. 2015.

Finalment, la detenció mediada per integrina permet l'extracció de cèl·lules canceroses circulants i els progenitors metastàtics únics interactuen amb les cèl·lules immunes, inflamatòries i estromals i comencen a proliferar<sup>5</sup>.

## 7. LA CICLOOXIGENASA I LES PROSTAGLANDINES

Tal i com hem comentat en els apartats anteriors, la inflamació té un paper clau en la progressió tumoral i les prostaglandines són unes molècules que actuen com a mediadores de la inflamació, les quals provenen de l'AA i la producció d'aquestes està regulada per l'enzim COX.

En els mamífers hi ha dues vies principals de metabolisme de l'AA: La via de la COX i la via de les lipoxigenases, mitjançant les quals es sintetitzen la major part dels eicosanoides biològicament actius: com les PG, els leucotriens, els àcids hidroieicosatetraenoics i les lipoxines<sup>15</sup> (Figura 4).

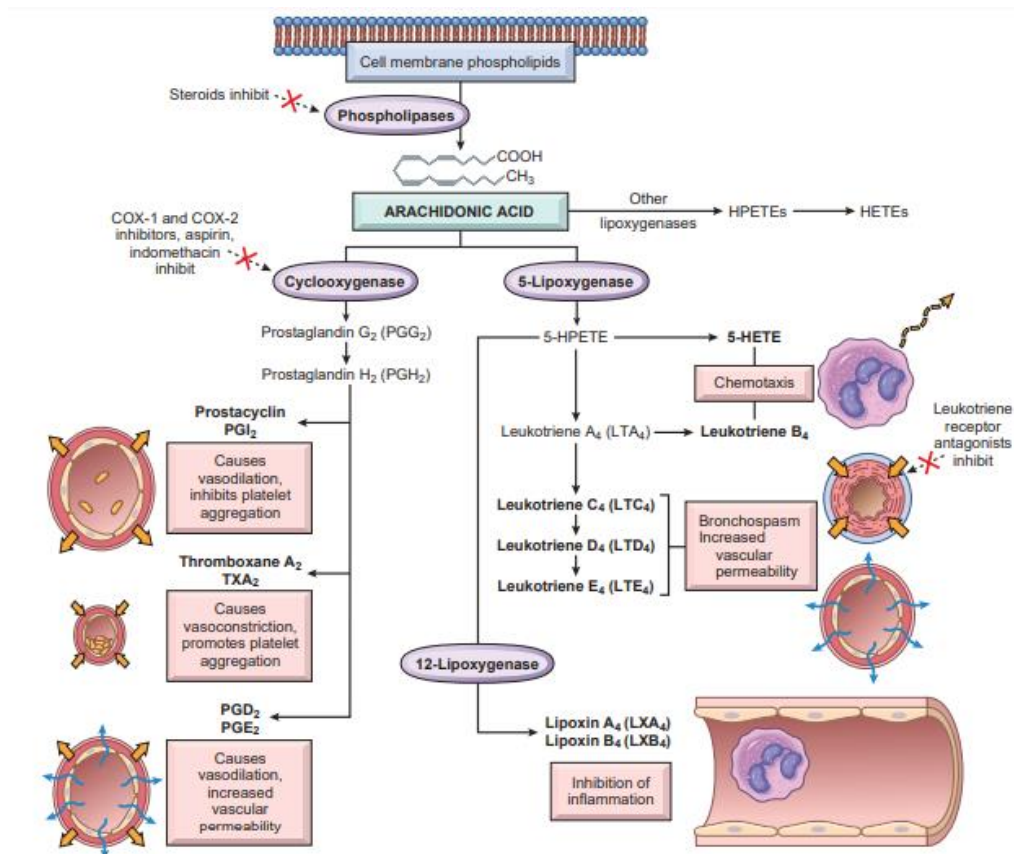


Figura 4. Vies de metabolisme de l'AA i el seu paper en la inflamació.

Extret de Robbins, S., Cotran, R., Kumar, V., Abbas, A. and Aster, J. *Pathologic basis of disease*. 2015.

Un cop secretats per les cèl·lules productores, els eicosanoides actuen de forma autocrina o paracrina, modulant diferents mecanismes fisiològics relacionats amb el sistema nerviós central, el cardiovascular, el digestiu, el genitorurinari, l'endocrí, el respiratori i el SI. Per altra banda, davant de situacions patològiques poden produir-se i secretar-se en excés generant dolor, febre i inflamació<sup>16</sup>.

Tots els derivats de l'AA estan involucrats en processos inflamatoris, tant com agents promotores o com agents inhibidors de la inflamació. Entre tots ells, la família més gran de derivats és la que s'obté per acció dels enzims COX-1 i COX-2 sobre l'aminoàcid per donar origen a les PGs i els tromboxans.

La COX-1 està expressada en una gran varietat de cèl·lules i teixits i és responsable de la producció de les prostaglandines amb funcions homeostàtiques en l'organisme<sup>17</sup>. Es localitza en el reticle endoplasmàtic i la seva acció recau en el pas de l'AA a PGG<sub>2</sub>.

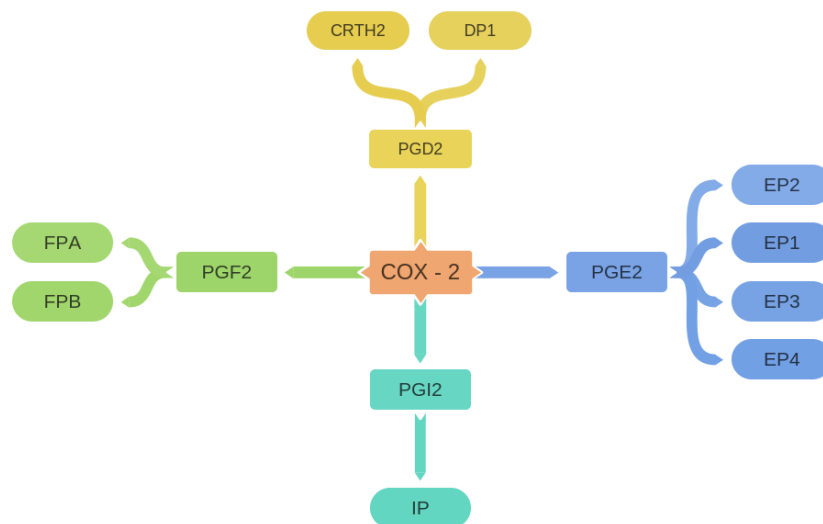
Acte seguit la PGG2 es converteix en PGH2, precursora de PGI2, PGE2, PGD2 i PGF2. Aquesta isoforma té diferents funcions i entre elles destaquen el seu paper en la coagulació sanguínia, la regulació de la vascularització i homeòstasi, la protecció tant renal com gastrointestinal i, finalment, la coordinació de les accions de les hormones circulants<sup>18</sup>.

Per altra banda, la COX-2 és absent a la majoria dels teixits, a excepció de la placenta, el cervell i els ronyons<sup>17</sup> (a la macula densa de la nansa de Henle ascendent en el gos<sup>19</sup>). Aquest enzim és tant una isoforma constitutiva com una forma induïble. La síntesi d'aquesta està estimulada per factors pro-inflamatoris com les citocines, els factors de creixement (GF), els lipopolisacàrids i els mitògens. I tot i que la majoria d'estudis afirmen que aquesta isoforma és la que genera PGs a les zones amb inflamació, altres estudis indiquen un paper de la COX-1 també<sup>18</sup>.

Recentment, s'ha descobert que existeix una tercera isoforma de la COX anomenada COX-3 tot i que encara no se'n sap gaire la seva funció<sup>8</sup>. Al principi es creia que era el lloc d'acció de l'acetaminofèn, un antipirètic i analgèsic, però actualment s'ha refutat aquesta hipòtesi<sup>17</sup>.

Respecte les prostaglandines, n'existeixen 4 tipus amb activitat biològica: La PGD2, la PGE2, la PGI2 i la PGF2 i tots elles estan produïdes en diferents òrgans i teixits, en els quals els diferents tipus cel·lulars sintetitzen una o dos d'aquestes, mantenint així la homeòstasi de l'organisme<sup>20</sup>.

Cada PG té diferents tipus de receptors (Figura 5) els quals es troben expressats en llocs específics. En concret, la PGD2 té dos receptors (DP1 i CRTH2) que es troben al cervell, a les cèl·lules mamàries i als pulmons. La PGE2 té quatre receptors (EP1 – 4) que es troben al cervell, als ronyons, a les plaquetes i a les cèl·lules del múscul llis. La PGI2 té un receptor anomenat IP que es troba a l'endoteli, al cervell, als ronyons, a les plaquetes i a les cèl·lules del múscul llis. I, finalment, la PGF2 en té dos (FP A i B) i es troben a l'úter, a les plaquetes, als ronyons i al cervell<sup>20</sup>.



**Figura 5. Tipus de receptors que hi ha a cada PG.**

Cal destacar també, que cada tipus de PG té una acció específica a la cascada de la inflamació tot i que principalment hi participen la PGD2, que és la responsable de la dilatació dels vasos i la PGE2, que augmenta la permeabilitat vascular i provoca el mecanisme de la febre i el dolor<sup>18</sup>.

En resum, les dues isoformes de ciclooxygenasa, COX-1 i COX-2, són objectius dels fàrmacs antiinflamatoris no esteroideus (AINEs) i aquests són inhibidors del lloc actiu de les COX<sup>20</sup>.



## 8. RELACIÓ DE LA COX-2 I LES PGS AMB EL CÀNCER

En apartats anteriors s'ha comentat la importància de la inflamació en el desenvolupament i la progressió dels tumors malignes, en canvi no tots els mediadors inflamatoris tenen el mateix paper o importància en els processos oncològics. Aquest apartat es centra només en la importància de la COX i els seus derivats en els processos tumorals.

La COX-2 té un rol important en el SI, especialment, la PGE2 té una influència negativa en l'activitat dels limfòcits T i B (LT i LB), en les cèl·lules natural killer (NK) i en les cèl·lules dendrítiques. També redueix la síntesi del TNF i augmenta l'activitat immunosupressiva de la IL-10<sup>8</sup>.

A nivell molecular, s'han descobert molts mecanismes dependents de COX-2 que inclouen l'activitat anti-apoptòtica i pro-angiogènica, la immunosupressió, l'estimulació de l'aromatasa P450 i la formació de mutàgens *in vivo*. En el cas de l'activitat antiapoptòtica, la COX-2 n'és responsable per varis factors com la degradació de l'AA (promotor de l'apoptosi) i l'activació de la serin-treonin kinasa (promotor de la supervivència cel·lular) entre d'altres.

Diferents estudis amb ratolins suggereixen que el receptor EP2 de la PGE2 té un paper significatiu en la formació de tumors. En els gossos, l'àcid linoleic conjugat disminueix l'expressió d'EP2 en les cèl·lules de la glàndula mamària<sup>21</sup>.

En altres estudis animals, s'ha demostrat que els mecanismes de COX-2 dependents i independents contribueixen a l'activitat antitumoral del Celecoxib de manera favorable. Wang et al., va demostrar diferents mecanismes com l'augment de l'apoptosi a través d'un nivell baix d'expressió de COX-2, la síntesi de PGE2 i l'angiogènesi, mediat per un nivell baix del VEGF. Tots aquests mecanismes estan vinculats amb l'efecte del celecoxib en l'adenocarcinoma colorectal<sup>22</sup>.

Els AINES són molt utilitzats per reduir els signes clínics de la inflamació i, a més, hi ha evidències científiques que determinen que tenen un efecte anti-tumoral i de prevenció en nombrosos tumors. E humana està demostrat que dosis baixes d'AINES redueixen el risc de càncer colorectal. En els gossos, l'expressió de COX-2 i PGE2 ha estat identificada en gran varietat de càncers, així com el carcinoma de les cèl·lules transicionals (CCT) de la bufeta, el limfoma, els tumors de la glàndula mamària i l'osteosarcoma, exposats en següents apartats del treball<sup>23</sup>.

Tot i que l'objectiu de desenvolupar AINES per prevenir el càncer és que siguin inhibidors de la COX-2, és important saber que hi ha experiments en ratolins que demostren que la inhibició de la COX-1 també pot ser beneficiosa. Per exemple, es va reduir un 70 – 80% de pòlips intestinals en un model de ratolí<sup>24</sup>. A més, també s'ha demostrat en estudis recents que la inhibició de COX-1 té un efecte potencial en la prevenció del càncer d'ovari<sup>21</sup>.

L'any 2016, La AAHA (American Animal Hospital Association) va determinar, a la guia sobre la oncologia de gossos i gats, que per alguns casos d'oncologia es fa una quimioteràpia inicial fins i tot quan no està considerada com a curativa. A més, la COX-2 és una teràpia coadjuvant que d'utilitat per al tractament de diversos tumors com el carcinoma mamari, el carcinoma de les cèl·lules escamoses (CCE) i els sarcomes de teixits tous (incloent-hi els sarcomes associats al lloc d'injecció)<sup>25</sup>.

Per altra banda, s'ha vist que el tractament continu mitjançant AINEs pot reduir la carcinogènesi mitjançant la inhibició de la producció de PG, citoquines i factors d'angiogènesi. Cal tenir en compte però, que els AINES no eliminen la inflamació sinó que actuen reduint la producció de determinats factors inflamatoris. De fet, els inhibidors COX-2 selectius poden proporcionar un

mètode més segur per a la quimioteràpia que els antiinflamatoris més recents, com ara l'aspirina i l'indometacina, que també inhibeixen l'activitat de COX-1 i poden produir lesions gàstriques i renals <sup>26</sup>.

## 9. EXPRESSIÓ DE COX-2 I PGS EN ELS TUMORS DELS ANIMALS DE COMPANYIA

Una gran varietat d'estudis immunohistoquímics i moleculars han evidenciat que existeix una gran varietat de tumors en animals que sobreexpressen la COX-2, tot i que el valor que té la sobreexpressió d'aquest enzim com factor pronòstic és menys evident. Els tumors que expressen COX-2 en gossos són principalment malignes d'origen epitelial, mesenquimal i de cèl·lules rodones. El problema més important en la interpretació de l'expressió de COX-2 en tumors en veterinària és la variabilitat dels esquemes de classificació, així com les diferències en la metodologia i els tipus d'anticossos (Ac) utilitzats per detectar aquest enzim<sup>27</sup>.

### 9.1. En gossos

#### Tumors epitelials

##### Tumors de mama

Els tumors mamaris són el tipus neoplàsic més freqüent en gosses sense esterilitzar, representant aproximadament el 50% de tots els tumors documentats, tot i que recentment s'ha indicat que pot representar fins al 70% de tots els tipus de càncer. L'índex de malignitat del tumor mamari en gossos és d'un 50% i la meitat d'aquests fan metàstasi<sup>2</sup>.

Els principals factors pronòstic en els tumors de mama són el grau histològic, la presència de metàstasi i la invasió de vasos limfàtics. En quan als marcadors més estudiats pel pronòstic són l'estat dels receptors d'hormones sexuals (principalment estrògens i progestàgens), l'índex mitòtic i l'expressió de HER-2/neu (receptor 2 del factor de creixement epidermal humà), entre d'altres tot, i que encara no es coneix de forma complerta la seva significació en alguns casos<sup>2</sup>.

En referència a l'expressió de COX-2 en el teixit mamari normal hi ha diferències entre estudis ja que en alguns l'expressió és molt baixa (17%)<sup>28</sup> o gairebé nul·la<sup>29 30 31</sup> i en altres s'ha determinat que hi ha força expressió (61%)<sup>21</sup>.

En quan als adenomes i carcinomes de la glàndula mamària, trobem una sobre-expressió de COX-2 en la majoria de càncers de mama. F. Millanta i P. Asproni han publicat diferents articles científics i en un dels seus estudis recents, l'any 2016, van determinar que hi ha una major expressió de COX-2 en els carcinomes (83%) que en els adenomes<sup>28</sup> (Figura 6). Estudis anteriors coincideixen en aquesta conclusió i determinen que els adenomes expressen al voltant del 20% - 24% de COX-2<sup>17</sup>; els carcinomes expressen el 100%<sup>28 21</sup> i els adenocarcinomes el 56%<sup>17</sup>.

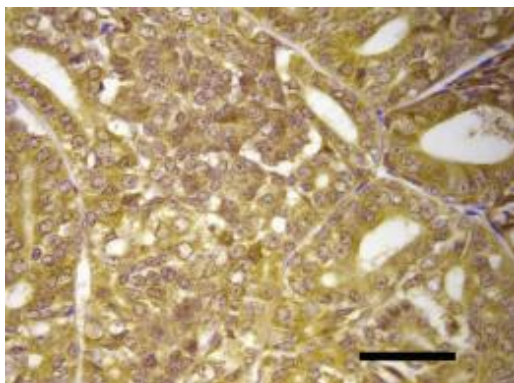


Figura 6. Expressió de COX-2 en un carcinoma mamari caní mitjançant la tècnica d'Immunohistoquímica (IHC)<sup>28</sup>.  
Extret de Millanta F. et al, 2016

És per això que cal entrar en detall en aquests dos tipus de tumors de la glàndula mamària (malignes i benignes) i analitzar profundament aquestes diferències.

## **Carcinoma**

Hi ha varis estudis que han determinat l'expressió de COX-2 en diferents tipus histològics de carcinomes de la glàndula mamària com, per exemple, el carcinoma sòlid (52%<sup>29</sup>, 76.5%<sup>32</sup>, 100%<sup>33</sup>), el carcinoma ductal o tubular (81%<sup>29</sup>, 100%<sup>32</sup>, 86%<sup>33</sup>), el carcinosarcoma (89%<sup>29</sup>, 83.3%<sup>32</sup>, 100%<sup>33</sup>), el carcinoma complex (100%<sup>29</sup>, 50%<sup>33</sup>), el carcinoma inflamatori (100%<sup>29</sup>), el micropapilar (100%<sup>32</sup>) i, finalment, en el cas del carcinoma inflamatori caní, l'expressió de COX-2 és superior en comparació amb qualsevol altre càncer de la glàndula mamària<sup>31</sup>.

En aquest tipus de tumors s'ha vist que existeix una correlació entre l'expressió de COX-2 i el grau histològic<sup>29 30 32 33 34</sup> (menys diferenciat més expressió de COX-2), la invasió limfàtica<sup>29 31 32 34</sup> (a més invasió limfàtica més expressió), la classificació TNM (Estadi IV: 100% d'expressió<sup>32</sup>) i l'índex mitòtic<sup>33 34</sup>.

L'estat reproductiu també és un factor a tenir en compte i és que les gosses esterilitzades amb carcinoma mamari tenen major expressió de COX-2 en el cas que hi hagi metàstasi (90.5%) però si no n'hi ha tenen molt poca expressió (9.5%). En canvi, gosses sense esterilitzar tenen una expressió bastant similar de COX-2 tant si hi ha metàstasi (57.5%) com no (42.6%)<sup>32</sup>

En quant a marcadors, l'índex Ki-67 es troba correlacionat positivament amb l'expressió de COX-2 (amb un índex superior hi ha més expressió de COX-2<sup>29</sup>). També es troba correlacionada positivament amb el VEGF<sup>31 34 35</sup> i el limfòcits T CD3+ (alta expressió de COX-2 i VEGF tenen números molt elevats de limfòcits T CD3+<sup>34</sup>).

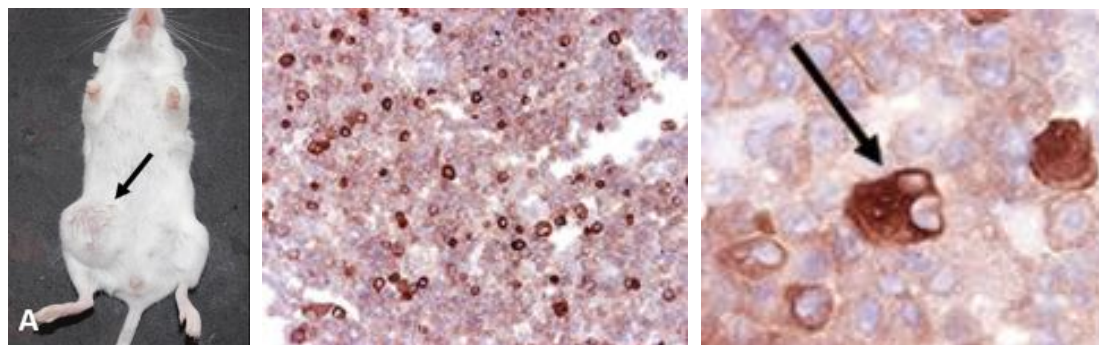
Altres factors com l'edat<sup>28 32</sup>, la raça<sup>32</sup>, la presència/absència de necrosi<sup>33 34</sup> i la morfologia<sup>28</sup> (complex/simple) no s'ha vist que tinguin cap mena de correlació amb l'expressió de COX-2 en els carcinomes mamaris<sup>32</sup>.

En quant a la mida del tumor, hi ha algunes controvèrsies entre diferents estudis ja que alguns determinen que està estretament relacionada amb l'expressió de COX-2<sup>34</sup> (mides >5cm tenen un 90% d'expressió i en canvi mides <3cm només tenen un 50%<sup>29</sup>) però altres estudis no n'han trobat la correlació<sup>28 32 33</sup>.

Adicionalment al parènquima del tumor, alguns autors suggereixen que l'expressió de COX-2 en les cèl·lules de l'estroma (inflamàtores, fibroblasts, vasos sanguinis) contribueix a les propietats proliferatives i invasives adquirides per les cèl·lules tumorals a través de la interacció tumor-estroma durant la tumorigènesi mamària<sup>29</sup>.

Per altra banda, el carcinoma inflamatori mamari caní (CIMC) és un subtipus de carcinoma mamari molt més agressiu caracteritzat clínicament per l'aparició d'intens edema i necrosi de la zona mamària relacionada amb la presència d'èmbols intravasculars amb oclusió de vasos sanguinis subcutanis. En aquest cas hi ha 3 articles, publicats recentment, que són força interessants i es troben explicats a continuació.

En un d'aquests es van aïllar cèl·lules tumorals del CIMC, anomenades IPC-366, les quals van inocular en 10 ratolins femella per observar la capacitat tumoral i metàstasi. La IHQ va revelar que les cèl·lules de IPC-366 van tenir una expressió de COX-2 superior al 90% i una tinció força intensa en el 10% d'aquestes (Figura 7)<sup>36</sup>.



**Figura 7.** Imatge esquerra: Xenografts de IPC-366 en un ratolí, 4 setmanes després de la inoculació (fletxa). Imatge centre: IHQ de IPC-366 amb tinció de COX-2. Imatge dreta: Les cèl·lules presenten malignitat (fletxa: Cèl·lula binucleada)<sup>36</sup>.

*Extret de Caceres S, Peña L, DeAndres PJ, et al. 2015.*

En un estudi semblant mitjançant IHQ, es va comparar l'expressió de COX-2 en mostres de glàndula mamària normal i de gosses amb CIMC. Els resultats obtinguts van demostrar un increment significatiu de l'expressió de COX-2 en les mostres de CIMC respecte les mostres de glàndula mamària sana. En quant a l'expressió en tumors, aquesta es va observar en aproximadament un 42% de les cèl·lules, principalment amb una elevada intensitat.<sup>31</sup>

I, finalment, en un tercer estudi es va observar també una tinció de COX-2 en el citoplasma de les cèl·lules tumorals. En el tumor caní i en els xenògrafs es va observar una intensitat de 2 (positivitat moderada) i heterogènia. A més, l'expressió de COX-2 en els CIMCs es trobava relacionada amb la presència d'embòlies en els vasos limfàtics del tumor, el que suggereix que aquesta molècula podria estimular la formació d'aquests èmbols, ja que la COX-2 afavoreix l'extravasació tumoral i la metàstasi a distància<sup>35</sup>.

### **Adenoma**

S'ha trobat un 20% d'expressió de COX-2 en adenomes<sup>28</sup> però a diferència dels tumors malignes de la glàndula mamària (principalment el carcinoma), no s'ha trobat cap correlació significativa entre l'expressió de COX-2 en els adenomes i el grau histològic, la mida del tumor, la presència/absència de necrosi i l'índex mitòtic<sup>33</sup>.

### **Carcinoma de pròstata**

Els tumors prostàtics en el gos són gairebé sempre malignes, tot i que existeixen algunes descripcions ocasionals de tumors primaris benignes en aquesta glàndula. La pròstata també pot ser una zona de localització de tumors secundaris metastàtics com el limfoma i l'adenocarcinoma perianal<sup>2</sup> però la majoria de tumors canins prostàtics són carcinomes i, d'aquesta majoria, principalment són adenocarcinomes<sup>14</sup>.

El carcinoma prostàtic té més incidència en gossos mascles castrats, geriàtrics, i normalment és un càncer amb poc TMS (pocs mesos després del diagnòstic inicial).

En el cas de la pròstata en condicions normals, no s'ha trobat expressió de COX-2 en els diferents estudis<sup>37 38</sup>. En canvi, En els carcinomes prostàtics hi ha un alt percentatge d'expressió de COX-2 (56%<sup>38</sup>, 88.2%<sup>39</sup>, 89.3%<sup>37</sup>), molt semblant també a l'expressió dels adenocarcinomes (61%<sup>17</sup> i 86%<sup>21</sup>).

En humans, l'expressió de COX-2 es troba correlacionada amb la presència d'inflamació crònica local i hi ha la hipòtesi que fins i tot pot ser aquest factor el que inicia i promou el càncer de pròstata.

Per contra, un estudi realitzat a 28 gossos amb carcinoma prostàtic, el 2007, va determinar que no hi ha cap correlació entre el grau d'inflamació i el percentatge de COX-2 detectat, de fet aquests estudis van detectar que els tumors sense inflamació tenien un índex de tinció més elevat. Els resultats d'aquesta investigació suggereixen que hi ha altres factors no inflamatoris responsables de la inducció d'expressió de COX-2 en el carcinoma prostàtic caní<sup>37</sup>.

No hi ha més referències bibliogràfiques disponibles fins al moment i, per tant, s'hauria de seguir investigant més sobre el paper de la COX-2 i el carcinoma prostàtic caní.

### *Tumors intestinals*

En humans els tumors intestinals son comuns, sobretot el carcinoma colorectal, però en animals de companyia i sobretot en gossos son poc freqüents. No obstant, la majoria dels tumors intestinals en els petits animals de companyia són malignes, sent l'adenocarcinoma el més freqüent en els gossos. I els tumors de l'intestí gruixut són més comuns que els de l'intestí prim, sent el recte la localització més freqüent<sup>2</sup>.

En condicions normals en el teixit intestinal no s'ha trobat expressió de COX-2<sup>40</sup>.

### ***Intestí prim***

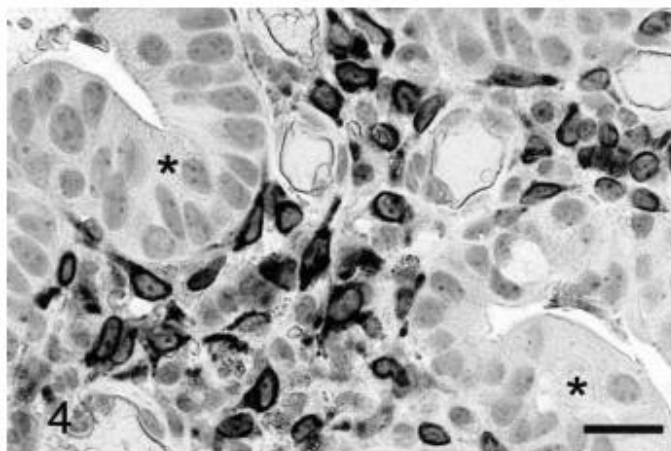
En quant a l'intestí prim, un estudi realitzat el 2003 no va trobar expressió en els adenomes, en gossos, tot i que hi havia una mida mostral molt petita (2 mostres)<sup>40</sup>.

En canvi, en els carcinomes s'ha trobat expressió elevada de COX-2 (88,2%<sup>41</sup>, 64%<sup>40</sup>). En un estudi es va determinar que el 47% dels adenocarcinomes, tant d'intestí prim com colorectals, van expressar COX-2 tot i que la majoria d'aquests tumors només tenien un percentatge baix (5-10%) de cèl·lules amb tinció<sup>40</sup>.

### ***Intestí gruixut***

Hi ha diferències entre l'expressió de COX-2 dels adenomes de l'intestí prim i els colorectals ja que aquests últims s'ha vist que tenen un 65% d'expressió<sup>40</sup>.

L'expressió de COX-2 en adenomes colorectals es limita essencialment a cèl·lules estromals no neoplàstiques (Figura 8), que morfològicament inclouen fibroblasts/miofibroblasts i, amb menys freqüència, macròfags<sup>40</sup>.



**Figura 8. Adenoma colorectal caní. Hi ha una forta expressió de COX-2 en les cèl·lules estromals entre les cèl·lules epitelials neoplàstiques (asteriscs) formant estructures glandulars. Mitjançant la tècnica del complex avidina-biotina-peroxidasa<sup>40</sup>.**

En el cas dels tumors malignes de l'intestí gruixut, en un estudi amb 25 casos d'adenocarcinoma colorectal es va valorar el percentatge d'intensitat de tinció de la COX-2, un 57.1% d'aquest no van mostrar tinció i un 16.7% en va mostrar de moderada. En total va haver-hi un 42,8% de tinció de COX-2 en comparació amb un 81% de tinció de COX-1<sup>42</sup>. Un altre estudi va determinar que només el 38% del casos d'adenocarcinomes rectals tenien cèl·lules positives a COX-2<sup>17</sup>.

A diferència dels adenomes, en els carcinomes hi ha més tinció de COX-2 a l'epiteli del tumor però, en canvi, és menys comú a l'estroma. I tot i que sembla que hi ha zones amb més tinció de COX-2 que d'altres, no s'han vist diferències significatives entre l'expressió de COX-2 i la morfologia del tumor<sup>40</sup>.

No s'ha trobat una correlació significativa entre l'augment de la tinció de la  $\beta$ -catenina citoplasmàtica i nuclear i la regulació de la COX-2 en els tumors<sup>40</sup>. Tampoc s'han trobat diferències significatives entre l'edat, la raça o el sexe i l'expressió de COX-2 en els adenocarcinomes rectals<sup>42</sup>.

Així doncs sembla ser que els tumors benignes de l'intestí prim, en gossos, no tenen expressió de COX-2 però en canvi els de l'intestí gruixut sí. I en quant als tumors malignes com l'adenocarcinoma tenen un nivell d'expressió semblant tant en l'intestí prim com en el gruixut.

En aquest cas no hi ha més referències bibliogràfiques ja que no és un càncer gaire comú en els animals de companyia, en canvi en humana podem trobar molta més informació ja que, al contrari, és força comú.

### Adenocarcinoma de glàndules apocrines dels sacs anals

Els tumors que s'originen dels sacs anals són poc freqüents i generalment estan relacionats amb un mal pronòstic a causa de la seva elevada capacitat d'invasió local i metàstasi principalment a limfonodes regionals, observant-se en el 36-96% dels pacients en el moment del diagnòstic<sup>2</sup>.

Només s'ha trobat un estudi que faci referència a l'adenocarcinoma dels sacs anals (ACSA) i s'explica a continuació.

Un estudi amb 22 gossos va demostrar que en condicions normals els sacs anals presenten un 100% d'expressió de COX-2. Així com també en tenen els ACSAs, els quals se n'ha trobat el mateix percentatge d'expressió en el mateix estudi amb 25 mostres (19 de l'ACSA i 6 restants de limfonodes afectats)<sup>43</sup>.

Les mostres d'ACSA únicament mostren tinció de les cèl·lules epitelials glandulars neoplàsiques, variant en intensitat i % de positivitats. En canvi, les mostres de teixit normal només mostren tinció de les cèl·lules epitelials ductals (Taula 1). Per tant, l'estudi demostra que la COX-2 té una funció fisiològica en els sacs anals<sup>43</sup>.

**Taula 1: Resultats de l'expressió de COX amb la tècnica d'IHQ en ACSAs i en els sacs anals normals<sup>43</sup>.**

	Intensitat (%)				Positivitat (%)			
	0	1	2	3	1	2	3	4
<b>ACSA (n=25)</b>	0 (0%)	13 (52%)	9 (36%)	3 (12%)	0 (0%)	1 (4%)	5 (20%)	19 (76%)
<b>Control (n = 22)</b>	0 (0%)	3 (13.6%)	12 (54.6%)	7 (31.8%)	0	0	0	22 (100%)

Intensitat (0 – 3) en el qual el valor de zero no mostra tinció; el valor 1, una tinció baixa; el valor 2, moderada i el valor 3, intensa amb 20 augments. I la positivitat (1 – 4) es valora de la següent manera: el valor 1 representa <1% positivitat, el valor 2 entre 1-9%, el valor 3 de 10 – 50% i el 4 >50% en un paràmetre de mitjana 5 per camp amb 40 augments. *Extret de Knudsen CS, Williams A, Brearley MJ, Demetriou JL. 2013.*

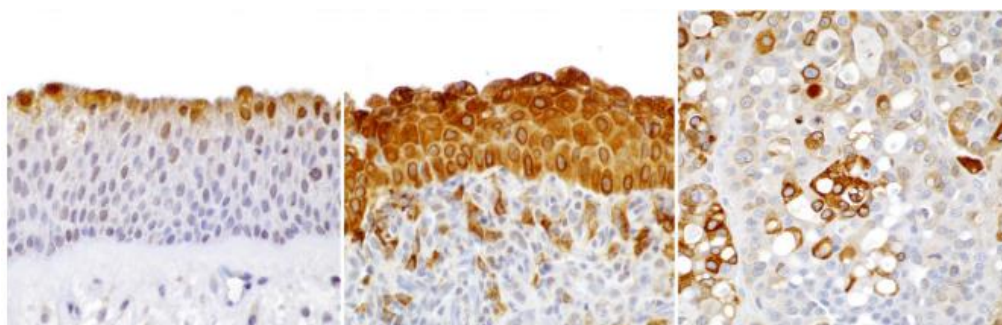
### Carcinoma de les cèl·lules transicionals

El CCT és el tumor més comú de la bufeta en animals de companyia i suposa un 1% de tots els tumors en gossos. Principalment són malignes i només un 3% d'aquests tipus de tumors són benignes<sup>2</sup>.

L'uroteli normal de la bufeta de l'orina no mostra expressió de COX-2<sup>44</sup>. I en quant a les cèl·lules inflamatòries de gossos amb inflamació crònica i aguda alguns estudis han trobat expressió de COX-2<sup>45</sup> mentre que altres no n'han detectat<sup>44</sup>.

Un estudi que es va realitzar *in vitro* va avaluar 16 CCTs i els anàlisis de la COX-2 amb IHQ van revelar diferents nivells d'expressió: absent (6.25%), moderat (25%) i alt (62.5%)<sup>44</sup>. En un altre estudi però, es va trobar expressió de COX-2 en totes les mostres de CCT (18 casos). Aquesta expressió va ser amb una intensitat lleu en 6 casos, moderada en 7 casos i elevada en 5 casos<sup>46</sup>.

En un estudi recent es van diferenciar diferents patrons d'expressió de COX-2 en lesions urotelials proliferatives de la bufeta de l'orina, on el patró 1 es trobava definit com una tinció de la major part de les cèl·lules superficials de l'uroteli (1-3 capes), el patró 2 com la tinció de tot el gruix de l'uroteli i, finalment, el patró 3 com una distribució desigual i aleatòria però amb >15% de cèl·lules amb tinció (Figura 9)<sup>47</sup>.



**Figura 9.** Bufeta de l'orina, en gos. Imatge esquerra: Hiperplàsia de l'uroteli amb un patró 1 d'expressió de COX-2. Imatge del centre: Hiperplàsia de l'uroteli amb un patró 2 d'expressió de COX-2. Imatge dreta: Carcinoma de les cèl·lules de transició (CCT) de distribució papil·lar de grau 2 i un patró 3 amb una distribució irregular de cèl·lules que expressen COX-2 mitjançant IHQ<sup>47</sup>.

*Extret de Sledge DG, Patrick DJ, et al. 2015.*

En aquest estudi es va determinar el nivell i patró d'expressió de COX-2 en la cistitis polipoide, el papiloma urotelial i el carcinoma papil·lar segons els grau histològic. El resultats de l'estudi (Taula 2) demostren que la majoria de lesions benignes presenten un pató 1 d'expressió, el 98% de les mostres del CCT de tipus papil·lar van tenir una expressió de COX-2 desigual/poc regular (patró 3). Concretament, en els de grau 2 i grau 3 hi va haver el 100% d'expressió de COX-2. En canvi, en els de grau 1 va haver-hi un 50% d'expressió limitada a les 3 primeres capes de cèl·lules superficials (patró 1) i l'altre 50% de distribució desigual<sup>47</sup> (Taula 2).

**Taula 2.** Expressió de COX-2 en les lesions urotelials en gossos, mitjançant IHQ<sup>47</sup>.

Classificació	Patró		
	1 (%)	2 (%)	3 (%)
Cistitis polipoide (n=44)	32 (73)	11 (25)	1 (2)
Papiloma urotelial (n=2)	1 (50)	1 (50)	0
Carcinoma papil·lar:			
Grau 1 (n=12)	1 (50)	0	1 (50)
Grau 2 (n=17)	0	0	17 (100)
Grau 3 (n=33)	0	0	33 (100)

*Extret de Sledge DG, Patrick DJ, Fitzgerald SD, Xie Y, Kiupel M. 2015*



El CCT mostra una forta expressió de COX-2 en el citoplasma amb una localització perinuclear en les cèl·lules tumorals<sup>44 48</sup>. A més, les cèl·lules positives a COX-2 es troben principalment localitzades a la perifèria de les cèl·lules del tumor i, en canvi, com més al centre més negatives eren<sup>44</sup>.

En quan a l'estadística, s'han trobat diferències significatives entre la classificació tumoral i el patró de COX-2; i la profunditat de les cèl·lules neoplàsiques a la paret de la bufeta de l'orina i el patró de COX-2 (en el carcinoma papil·lar es mostra generalment el patró 3)<sup>47</sup>. Per altra banda, no s'han trobat diferències significatives entre l'expressió de COX-2 i el grau del CCT (alt/baix)<sup>45</sup>, i entre l'expressió de COX-2 i la concentració de PGE2<sup>46</sup>.

S'ha observat que els gossos amb CCT i la mutació BRAF tenen una expressió de COX-2 més elevada que els gossos amb CCT sense la mutació, sempre i quan no siguin de la raça Terrier<sup>45</sup>.

### *Carcinoma de les cèl·lules escamoses*

El carcinoma de les cèl·l. escamoses (CCE) és el tumor maligne més comú en el cap i el coll en humana. En gossos i gats és un dels més comuns; en gossos és el segon tumor de pell més comú i també el segon més maligne de la cavitat oral. La localització més freqüent del CCE és a les extremitats i el nas<sup>49</sup>.

S'ha demostrat en varis estudis que en els teixits cutanis normals no hi ha expressió de COX-2, ni en gossos ni en gats<sup>50 51 52</sup>. Tampoc se n'ha trobat expressió en la cavitat oral<sup>38 53</sup>.

### ***CCEs cutanis***

L'expressió de COX-2 en els CCEs cutanis és significativament més elevada que en els no cutanis orals, tant en gossos com en gats. S'ha trobat una expressió de COX-2 força elevada en els CCEs cutanis (87.5<sup>51</sup>, 100%<sup>50</sup>). Alguns autors conclouen que l'expressió de COX-2 no és responsable de la proliferació cel·lular en els CCEs cutanis en gossos tot i que té un paper molt important en la carcinogènesi<sup>54</sup>.

El patró d'expressió de COX-2 era heterogeni en les diferents seccions examinades dels tumors<sup>51</sup> però no es troba correlacionada amb la presència d'una invasió limfàtica o el grau histològic del tumor<sup>51</sup>. Tampoc s'ha trobat una correlació entre l'expressió de COX-2 i l'índex Ki-67 i la recurrència del tumor en els CCEs cutanis canins<sup>54</sup> però sí que es troba relacionada amb la progressió dels efectes de la malaltia<sup>17 51</sup>.

Finalment, alguns autors conclouen que l'expressió de l'enzim COX-2 no és el responsable de la proliferació cel·lular en els SCCs cutanis en gossos tot i que té un paper molt important en la carcinogènesi<sup>54</sup>.

### ***CCEs orals***

En el cas dels CCE orals hi ha controvèrsies entre els resultats obtinguts en diferents estudis ja que s'ha trobat un 65% d'expressió de COX-2 en 17 de 26 CCEs orals de moderada a alta intensitat<sup>38</sup> i un 14.3% en 1 de 7 mostres de CCE no cutanis (sense especificar si són orals, nasals o altres tipus de teixit)<sup>51</sup>.

La COX 2 és un dels marcadors que més s'expressa en els CCE orals tant en humana com en gossos i gats<sup>55</sup>, per tant és un marcador important que cal tenir en compte en els CCE orals. A més, també s'ha observat que uns nivells elevats de COX-2 estan relacionats amb graus més alts de CCE orals.

### **CCEs nasals**

Només un estudi fa referència als CCEs nasals i en una mostra es va trobar expressió de COX-2 d'un 71% i es trobava, principalment, al citoplasma de les cèl·lules<sup>56</sup>.

**Taula 3: Expressió de COX-2 en els carcinomes de les cèl·lules escamoses cutanis, orals, de bufeta i nasal.**

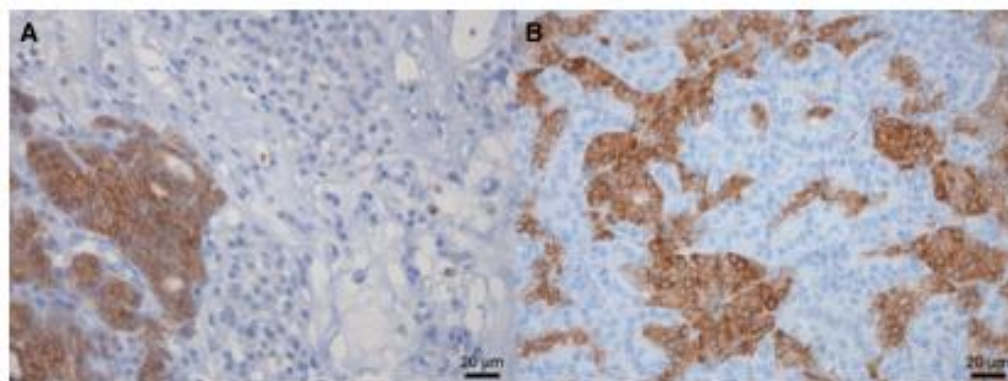
<b>Carcinoma de les cèl·lules escamoses</b>	<b>Expressió de COX-2</b>
CCE cutani	87.5% <sup>51</sup>
	100% <sup>50</sup>
CCE oral	14.3% <sup>51</sup>
	65% <sup>38</sup>
CCE nasal	71% <sup>56</sup>

**\*Fa referència només a una mostra.**

### ***Tumors de tiroides***

Els tumors de tiroides representa un 1,1% - 3,8% de tots els tumors en gossos<sup>14</sup> i entre el 10% i 15% de tumors del cap i coll en gossos. A més, el 90% de tumors de tiroides detectats clínicament són carcinomes i poden ser classificats en fol·liculars o medul·lars<sup>57</sup> però estudis en necropsies han estimat que entre el 30% i el 50% dels tumors tiroideus són adenomes<sup>14</sup>.

Hi ha controvèrsies entre diferents estudis, tots dos publicats l'any 2014. Un dels estudis va determinar que les glàndules tiroidees no mostren cap tipus d'expressió de COX-2 en condicions normals<sup>58</sup>, però va determinar el nivell d'expressió de la COX-2 segons el tipus de cèl·lules que formaven el carcinoma i el resultat va ser d'un 13% en el cas del carcinoma de cèl·lules fol·liculars i d'un 50% en el de cèl·lules medul·lars. De fet, l'expressió de COX-2 va ser significativament més elevada en el carcinoma de cèl·lules medul·lars que en el de cèl·lules fol·liculars (Figura 10)<sup>58</sup>.



**Figura 10. Expressió de COX-2 mitjançant IHQ. (A) Carcinoma de tiroides de cèl·lules fol·liculars. (B) Carcinoma de tiroides de cèl·lules medul·lars<sup>58</sup>.**

*Extret de Campos M, Ducatelle R, Kooistra HS, et al. 2014.*

Mentre que l'altre estudi va determinar mitjançant RT-PCR (*de l'anglès Real Time Polymerase Chain Reaction*) que l'expressió de COX-2 no és significativament diferent entre les glàndules tiroidees normals i els tumors de tiroides (Figura 11)<sup>57</sup>.

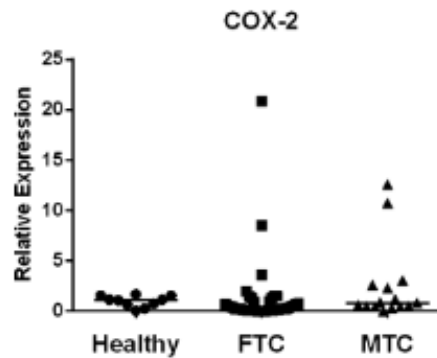


Figura 11. Nivell d'expressió de mRNA de COX-2. Healthy, glàndula de tiroides en condicions normals; FTC, Carcinoma de tiroides de cèl·lules fol·liculars; MTC, Carcinoma de tiroides de cèl·lules medul·lars<sup>57</sup>.

*Extret de Campos M, Kool MMJ, Daminet S, et al. 2014.*

### Altres tumors epitelials

Baek et. al. van determinar l'expressió de COX-2 en el carcinoma nasal amb un 71%<sup>21</sup>.

En el cas del carcinoma d'ovaris s'ha trobat una expressió del 82%<sup>21</sup>.

## **Tumors mesenquimals**

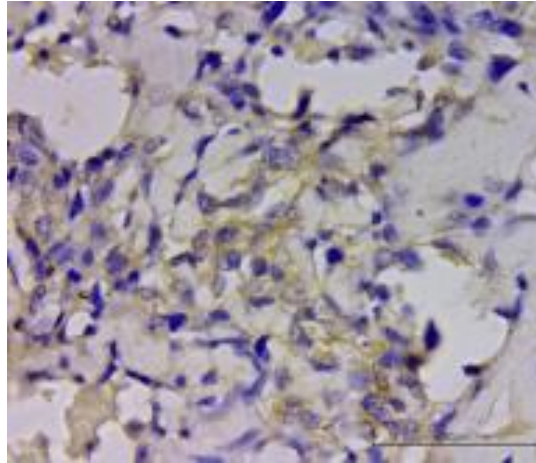
### Hemangiosarcoma

L'hemangiosarcoma (HSA) és un tumor maligne de les cèl·lules de l'endoteli vascular i el tumor esplènic més freqüent en el gos<sup>2</sup>. És força comú en gossos, sobretot en el Pastor Alemany i el Golden Retriever, però més estrany en altres espècies. La localització cutània, especialment en dermis profunda o panícul adipòs, es relaciona amb un TMS curt, elevat risc de desenvolupament de metàstasis locals i distants, i risc de recurrència després de l'excisió quirúrgica.

L'origen del tumor és principalment de l'aurícula dreta (25%), de la melsa (50%), del fetge (5%), del teixit subcutani (13%), d'altres òrgans (2%) i un 5% són d'origen simultani de l'aurícula dreta, melsa i fetge<sup>2</sup>.

Hi ha pocs estudis que facin referència a l'expressió de COX-2 en els HSAs canins i hi ha diferents conclusions entre aquests. El primer estudi es va fer l'any 2005 i no es va trobar expressió de COX-2 en cap dels 19 tumors estudiats en gossos de diferents races, en el qual les mostres eren de la melsa<sup>59</sup>. En canvi en un estudi publicat recentment es va observar expressió de COX-2 en el 80% de les mostres d'HSA cutani<sup>60</sup>.

En aquest últim estudi es van observar 5543 tumors, els quals es va veure que l'1.98% eren HSA cutanis. En concret, hi havia 60 mostres d'HSA cutanis on el 35% tenien múltiples HSA cutanis en diferents zones (la inguinal, les extremitats, el cap i el tòrax). Cal tenir en compte però, que el 95.83% van tenir una baixa intensitat a la tinció de la prova IHQ i que cap de les mostres va tenir una intensitat elevada. A més, la tinció es va concentrar en la zona citoplasmàtica de les cèl·lules (Figura 12)<sup>60</sup>.



**Figura 12.** Expressió de COX-2 en un HSA cutani. Mostra una tinció, principalment, citoplasmàtica (IHQ)<sup>60</sup>

*Extret de Sehaber VF, Madureira R, Bracarense APFRL. 2019.*

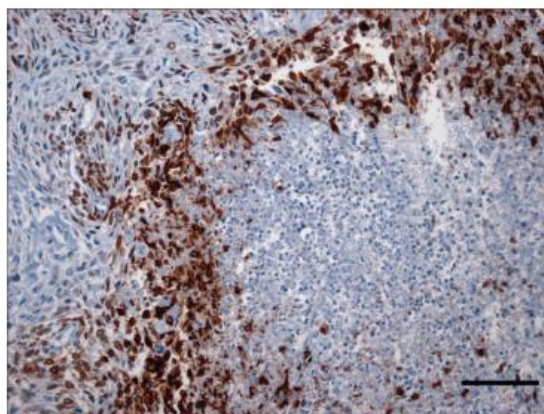
### Osteosarcoma

L'osteosarcoma és el tumor ossi més freqüent tant en gossos (85%)<sup>2</sup> com en nens. És freqüent en races grans i gegants com el Galgo anglès i el Greyhound. És un tumor força agressiu ja que té una elevada capacitat metastàtica via hematògena, generalment a pulmó, amb una clínica que cursa força ràpid cap a fractures, dolor i metastasis<sup>49</sup>.

Primerament, se sap que els ossos en les seves condicions normals, sense tumors o lesions, no mostren expressió de COX-2, en gossos<sup>61 62 38</sup>. En canvi, diversos estudis han demostrat expressió de COX-2 en una proporció relativament elevada en osteosarcomes canins (77.3%<sup>62</sup> i 93%<sup>61</sup>).

Al contrari del que s'havia vist en estudis anteriors, que no havien trobat expressió o n'havien trobat molt poca (23% ,3 de 13 casos)<sup>38</sup>.

En 44 casos concrets amb osteosarcoma apendicular, el lloc més comú on es formen els osteosarcomes, van avaluar l'expressió de la COX-2 i era molt similar a altres estudis fets ja en humana i veterinària. A més però, es va trobar una tinció de COX-2 més forta en les àrees de necrosi (Figura 13)<sup>62</sup>.



**Figura 13.** Secció d'un osteosarcoma caní vist microscòpicament. Es pot apreciar la necrosi de la mostra amb una zona de forta immunoreactivitat de COX-2. Barra = 100µm<sup>62</sup>.

*Extret de Mullins MN, et al. 2004.*

En quan a les metàstasis a pulmó a causa de l'osteosarcoma, que és una de les metàstasis més freqüent com hem comentat anteriorment, gairebé no se n'ha trobat expressió de COX-2 (1 de 8 casos)<sup>38</sup>.

En un estudi recent s'ha observat que hi ha una gran expressió tant de COX-2 com d'EP2 i MPGES-1 (de l'anglès *Microsomal Prostaglandin E Synthase-1*) en els ossos amb lesions i més en osteosarcomes. A més, l'expressió del receptor EP2 es troba correlacionat amb l'expressió augmentada de COX-2 i mPGES-1<sup>61</sup>.

Per altra banda, en un altre estudi, es van identificar cèl·lules mare d'osteosarcomes primaris en gossos i van determinar que l'expressió de COX-2 en aquest tipus de cèl·lules és elevada. Aquesta expressió no té cap efecte en la viabilitat cel·lular o l'habilitat de formar colònies, tot i que sí que és necessària per la formació d'esferes. Per tant, aquest estudi demostra que la COX-2 té un rol molt important en la iniciació del tumor però no es pot concloure que la inhibició de la COX-2 pugui prevenir la metàstasi<sup>63</sup>.

### Sarcoma de teixits tous

El sarcoma de teixits tous és, generalment, inclou un tumor de creixement lent a qualsevol part del cos i acostuma a tenir un comportament localment agressiu i un potencial de metàstasi baix-moderat. El 15% dels tumors de pell, en gossos, són d'aquest tipus i s'ha descobert fins a 20 subtipus histològics en els gossos tot i que la majoria d'aquests tenen un comportament biològic similar<sup>14</sup>.

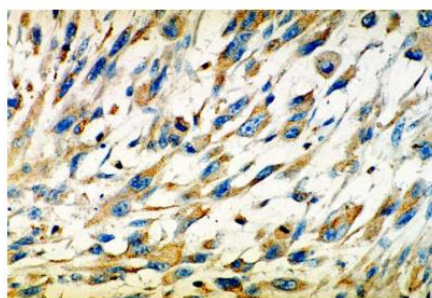
Els principals subtipus de sarcomes teixits tous són el fibrosarcoma, el PNST (de l'anglès *Peripheral nerve sheath tumor*), el liposarcoma, el mixosarcoma, el mesenquimoma maligne, el leiomioma, el rabdomiosarcoma, el sarcoma de les cèl·lules sinovials i limfangiosarcoma, entre d'altres<sup>14</sup>.

### **Fibrosarcoma**

Només s'ha trobat un estudi que faci referència l'expressió de COX-2 en el fibrosarcoma caní i es va observar una expressió de COX-2 de 43.5% en el citoplasma de les cèl·lules de 23 mostres de fibrosarcoma analitzades<sup>64</sup>.

Es van classificar les mostres segons el grau de malignitat (G), el qual incloïa tres paràmetres: la diferenciació histològica del tumor, el número de mitosis i la presència de necrosis. Així doncs, un G1 era un grau baix, G2 moderat i G3 elevat. A l'estudi es va poder observar que com més elevat era el grau de malignitat més expressió de COX-2 s'observava en les mostres<sup>64</sup>.

Per altra banda, també es van classificar les mostres segons la intensitat de la tinció i el percentatge de cèl·lules positives a la tinció. A l'estudi, es va poder observar que cap mostra va presentar una intensitat de COX-2 elevada.<sup>64</sup> (Figura 14).



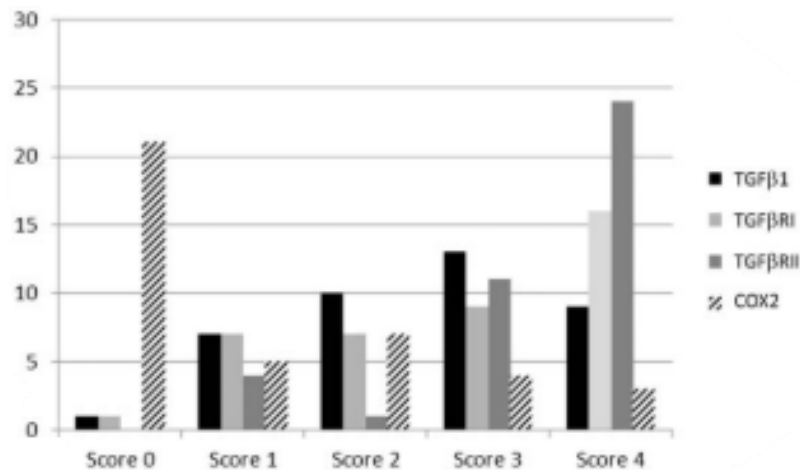
**Figura 14. Expressió de COX-2 d'intensitat moderada en el citoplasma de cèl·lules de fibrosarcoma caní<sup>64</sup>.**

*Extret de Nowak M, Madej JA, Dzięciel P. 2007.*

### ***Tumor de paret perivascular (Hemangiopericitoma)***

Només un estudi fa referència a aquest subtipus de tumors i l'expressió de COX-2. En aquest cas es va expressar en 19 casos de 40 (47.5%), i d'aquests, 14 casos (35%) van ser amb una expressió elevada de COX-2<sup>65</sup>.

Aquest estudi va determinar una puntuació (0-4) avaluant el percentatge de cèl·lules neoplàsiques positives a la mostra on: 0 és negatiu, 1<20%, 2 és 21-50%, 3 és 51-70% i 4>70%. Es va observar que les mostres amb una puntuació de 4 tenien moltes cèl·lules neoplàstiques però poca expressió de COX-2. En canvi, en més de 20 casos, es va trobar expressió de COX-2 en les mostres de puntuació de 0<sup>65</sup> (Figura 15).



**Figura 15.** Gràfica resum sobre el número de casos (eix y) i el tipus de puntuació (eix x) per TGFβ1, TGFβRI, TGFβRII i COX-2<sup>65</sup>.

*Extret de Avallone G, Stefanello D, Boracchi P, et al. 2015.*

A l'anàlisi estadístic es va poder observar una correlació entre el TGFβ1 (de l'anglès *transforming growth factor beta 1*) i COX-2, com més TGFβ1 menys expressió de COX-2<sup>65</sup>.

### **Tumors de cèl·lules rodones**

#### **Melanoma**

En els gossos, 2/3 dels melanomes cutanis són benignes (melanocitomes) i la resta malignes. Es creu que ocasionalment té lloc la transformació maligna de lesions benignes<sup>2</sup>. En el gossos, el melanoma oral maligne representa un dels tumors orals més freqüents i normalment té un mal pronòstic perquè acostumen a ser histològicament i clínicament més agressius que els melanomes cutanis o oculars<sup>27</sup>.

En contrast amb altres tumors orals malignes, el melanoma maligne acostuma a ser més freqüent en races petites amb una mitja d'edat d'11 anys. El 80% dels melanomes orals fan metàstasi, en gossos<sup>2</sup>.

En general, l'augment de COX-2 en grau i intensitat estan associats amb la presència de necrosi, ulceracions i inflamacions, un alt índex mitòtic (superior a 3 en un 73% dels casos<sup>66</sup>), poca intensitat de pigmentació i augment del pleomorfisme nuclear.

L'absència d'expressió de COX-2 es troba associada amb la predominança de cèl·lules neoplàsiques de morfologia epitelioid i amb l'absència d'invasió vascular<sup>67</sup>. Per altra banda, no s'ha trobat una correlació entre la infiltració de limfòcits T CD3+ i la COX-2<sup>66</sup>.



També es va trobar una correlació positiva entre el grau i intensitat d'expressió de COX-2 en els melanomes i el Ki-67<sup>66</sup>, el factor VIII, CD3+ i el MAC387 però no es va trobar una correlació de grau d'expressió de COX-2 amb el VEGF, només d'intensitat<sup>67</sup>. En el melanoma la COX-2 i la PGE2 són mediades per l'IL-1 $\beta$ , un tipus de citoquina. A més, els inhibidors NF- $\kappa$ B disminueixen l'alliberament de la PGE2 i l'expressió de COX-2<sup>68</sup>.

### **Melanoma oral**

En un dels estudis es va fer una escala segons el número de cèl·lules positives de COX-2 on 0 es refereix a <5% de cèl·lules positives, 1 al 5-25%, 2 al 25-50% i 3>50%. I a partir d'aquesta puntuació van observar el número de mostres que hi havia a cada un. El percentatge va ser d'un 8% a grau 0, 4% a grau 1, 69% a grau 2 i un 52% a grau 3 (Taula 4)<sup>66</sup>. També va haver-hi expressió en tots els melanomes orals malignes (100%) on la tinció es trobava de forma predominant a la zona perinuclear del citoplasma<sup>69</sup>.

**Taula 4. Expressió de COX-2 segons la localització del tumor (n=57)<sup>66</sup>.**

Localització	Expressió de COX-2				Total
	0	1	2	3	
Oral	2	1	9	13	25
Cutani	15	9	4	4	32

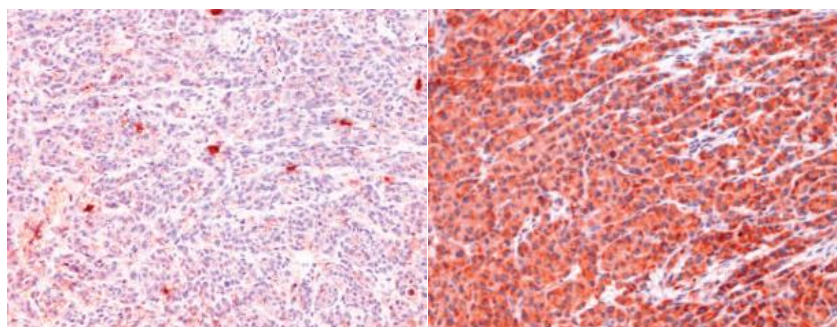
*Extret de Pen C, Vilafranca M, Ramí G. 2011.*

En un altre estudi, tant la COX-2, el p53, el c-kit i el Ki67 es van observar a les cèl·lules neoplàsiques d'un melanoma i un CCE oral (tumor mixt) en un gos i, en canvi no es va trobar expressió de cap d'aquests components esmentats en els teixits control<sup>53</sup>.

### **Melanoma cutani**

Hi ha diferents estudis que demostren que hi ha cert nivell d'expressió de COX-2 en els melanomes cutanis (55%) de diferents graus (1, 2 i 3)<sup>69</sup>.

En un estudi van observar que el percentatge de mostres de melanomes cutanis (principalment cap, abdomen i extremitats) era de grau 0, 46%; de grau 1, 28%; de grau 2, 12,5% i de grau 3, 12,5% (Taula 4), i segons l'índex mitòtic hi ha més expressió de COX-2 com més alt és l'índex i el grau del tumor<sup>66</sup> (Figura 16).



**Figura 16. [Esquerra]: Tinció positiva de COX-2 en un tumor melanocític cutani caní de grau 0 (<5% de cèl·lules positives). [Dreta]: Tinció positiva de COX-2 en un tumor melanocític cutani caní de grau 3 (>50% de cèl·lules positives)<sup>66</sup>.**

*Extret de Pen C, Vilafranca M, Ramí G. 2011.*

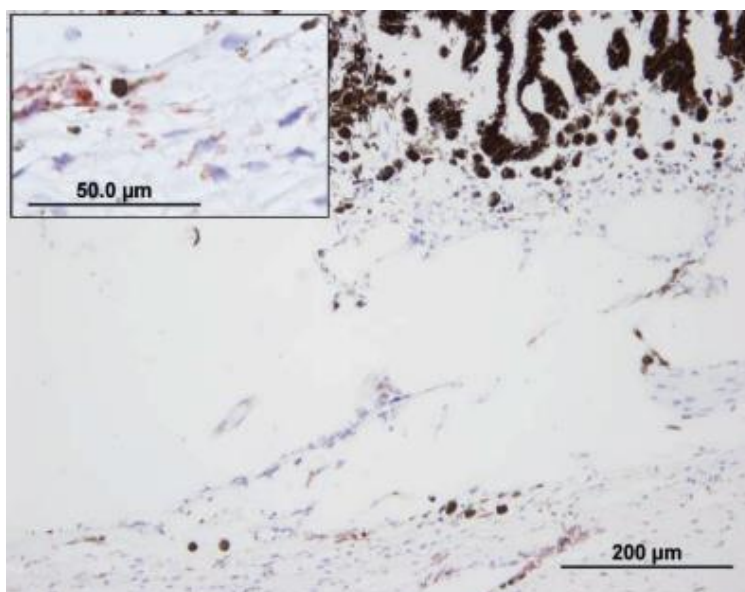
En concret, els cutanis benignes tenen menor expressió que els malignes ja que es va fer un estudi de 51 tumors melanocítics dels quals 20 eren benignes (melanoma cutani) i 31 melanomes malignes (12 cutanis i 19 orals). No va haver-hi cap dels tumors benignes que

mostrés expressió de COX-2 però, en canvi, els malignes tenien una intensitat d'expressió de COX-2 molt elevada<sup>67</sup>.

### **Melanoma ocular**

En un estudi, 1 de 2 melanomes oculars (50%) va tenir una expressió de COX-2 de grau 3, amb una moderada intensitat<sup>69</sup>

En un altre estudi de 71 globus oculars, dels quals n'hi havia 15 benignes (melanocitoma uveal), 34 malignes (melanoma maligne uveal), 8 mixtes, 10 sense cap tipus de tumor però amb diferents lesions i 4 sense cap anormalitat present es va detectar una certa expressió de COX-2. Es va trobar expressió de COX-2 en el 91,2% dels globus oculars amb neoplàsia però també en els globus oculars sense cap tipus de neoplàsia (Figura 17). L'expressió de COX-2 es va trobar en major proporció en el cos ciliar dels melanomes malignes oculars (58%) a diferència a la resta; globus oculars sense malaltia (25%), amb malalties però sense tumors (40%), amb melanocitoma (20%) i tumors mixtes (53%). L'expressió de COX-2 va ser similar entre els globus amb neoplàsia i els globus amb diferents malalties però sense neoplàsia. Tot i això, 10 globus amb malaltia i sense neoplàsia van expressar COX-2 a la còrnia en comparació amb el 7% de globus amb neoplàsia que van mostrar expressió a la mateixa zona. Per altra banda, No es va detectar expressió de COX-2 a l'epiteli dels globus oculars sense neoplàsia però, en canvi, si que es va detectar en el 12% dels globus amb melanoma. No es va trobar expressió de COX-2 en els globus de tumors mixtes. Finalment, no es va expressar COX-2 en la còrnia ni la retina ens els globus oculars sense cap patologia<sup>70</sup>.



**Figura 17. Fotografia a microscopi de l'angle iridocorneal amb el procés ciliar adjacent d'una secció del globus ocular d'un gos sense malaltia. Es mostra tinció de COX-2 granular intracitoplasmàtica<sup>70</sup>.**

*Extret de Paglia D, Dubielzig RR, Kado-fong HK, Maggs DJ. 2009*

De moment podem saber que els melanomes orals tenen major expressió de COX-2 que els melanomes cutanis i els oculars. I, en general, els melanomes malignes expressen més la COX-2 que els melanomes benignes.



### Mastocitoma

Els mastocitomes (MCTs) són una de les neoplàsies de pell més comunes en gossos, representen entre el 7% i el 21%<sup>52</sup> dels tumors cutanis canins. No hi ha predisposició sexual però hi ha algunes races que sembla que tenen una major predisposició per patir la malaltia com, per exemple, el Bòxer, el Weimaraner o el Labrador<sup>71</sup>.

L'expressió de COX-2 és absent en els teixits normals de la pell i també de les zones adjacents als tumors<sup>52</sup> tal com ja havíem comentat anteriorment.

Estudis previs al 2011 determinaven que els MCTs eren un tipus de tumor COX-2 negatiu<sup>17</sup> però, en canvi, recents estudis han demostrat que són COX-2 positius en un 92% (46 de 50 individus)<sup>71</sup>, 78% (40 de 53 individus)<sup>72</sup> i 82% (42 de 49 individus)<sup>52</sup> aproximadament.

Un MCT amb un alta intensitat de COX-2 es troba correlacionat estadísticament amb la mida del tumor, la ulceració de la pell, el patró de creixement del tumor, la quantitat d'estroma, la presència de cèl·lules multinuclears, un índex mitòtic >5 i un alt grau histològic. També es troba relacionat amb la intensitat de COX-2 la densitat dels microvasos i el marcador Ki-67. En canvi, la localització anatòmica del tumor, la quantitat de limfòcits i macròfags no es troben relacionats amb la intensitat de la COX-2 en els MCT (Taula 5)<sup>71</sup>.

Els mecanismes que són COX-2 dependents poden estar relacionats amb l'angiogènesi i la proliferació tumoral<sup>71</sup>. A més, la COX-2 i la PGE2 estan associats a un augment de la proliferació, invasió, capacitat metastàtica i inhibició de l'apoptosi en els MCTs canins<sup>71</sup>.

Taula 5: Associació entre la intensitat de COX-2 i diferents variables en els MCTs canins<sup>71</sup>.

	Intensitat COX-2		<i>P valor</i>
	Baixa	Alta	
<b>Mida del tumor (cm)</b>			<b>0.033</b>
<1	10	13	
>1 i <3	2	14	
>3	1	10	
<b>Zona</b>			<b>0.91</b>
Cap	1	5	
Extremitats	7	13	
Tòrax	1	3	
Abdomen	2	6	
Perineal	2	5	
<b>Ulceració de la pell</b>			<b>0.039</b>
Present	1	15	
Absent	12	22	
<b>Patró de creixement</b>			<b>0.021</b>
Present	4	26	
Absent	9	11	
<b>Estroma</b>			<b>0.008</b>
Baix	3	21	
Moderat	9	8	
Alt	1	8	
<b>Cèls. multinuclears</b>			<b>0.008</b>
Present	1	19	
Absent	12	18	
<b>Índex mitòtic</b>			<b>0.022</b>
<5	13	25	
>5	0	12	
<b>Densitat dels microvasos</b>			<b>0.045</b>
Baixa	10	16	
Alta	16	16	
<b>Ki-67</b>			<b>0.009</b>
Baixa	13	0	
Alta	23	14	
<b>Linfòcits T</b>			<b>0.377</b>
Baixa	13	32	
Mitjana	0	4	
Alta	0	1	
<b>Macròfags</b>			<b>0.261</b>
Baixa	12	29	
Alta	29	8	
<b>Grau histològic</b>			<b>&lt;0.001</b>
Baix	12	13	
Alt	1	24	

Els valors en vermell no són estadísticament significatius ( $p>0.05$ ), de la prova chi quadrat de Pearson.

Extret de Gregório H, Raposo T, Queiroga FL, Pires I, Pena L, Prada J.2016.

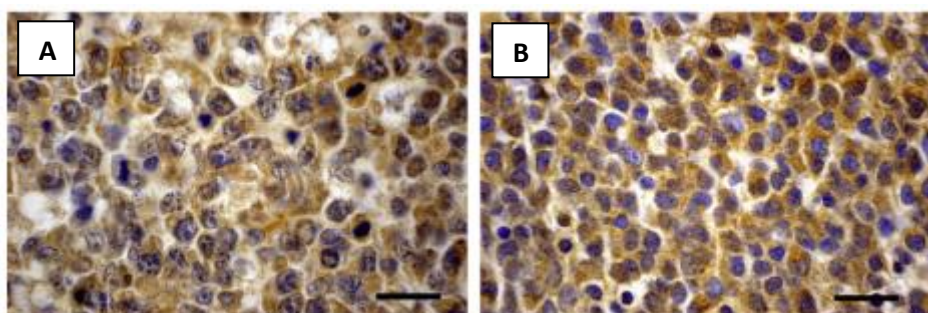
### Limfoma

El limfoma és un dels tumors més freqüents en la clínica diària, afortunadament, de tots els tumors disseminats que es veuen en gossos i gats, aquests són els que responen millor al tractament. L'etiologia es considera multifactorial la genètica juga un paper molt important i hi ha predisposició de desenvolupar limfomes en certes races com el Bòxer, el Basset Hound, el Rottweiler, el Cocker Spaniel, etc.<sup>49</sup>

En quan als limfomes hi ha molt poques referències bibliogràfiques que estudiïn l'expressió de la COX-2 i, a més, hi ha algunes controvèrsies entre els pocs articles existents. És per això que a la revisió bibliogràfica de M. Doré<sup>17</sup> (2011) no hi ha explicacions sobre aquest tipus de tumor en els gossos.

S'ha observat una expressió de COX-2 en hiperplàsia limfoide reactiva<sup>73</sup> però no se n'ha trobat a mostres normals de limfonodes<sup>38 73</sup>. També va ser absent en un estudi amb 10 mostres de limfoma caní obtingudes mitjançant biòpsia, realitzat el 2004, però present en alguns macròfags dels limfonodes<sup>38</sup>.

Per altra banda, es van avaluar 22 casos de limfomes de cèl·lules T i 22 de cèl·lules B (Figura 18). D'aquests 22 limfomes de cèl·lules T, la majoria eren d'alt grau (18 casos) però en canvi de cèl·lules B només 5 eren d'alt grau. També es va tenir en compte la mida de les cèl·lules segons el subtipus de tumor. Els resultats van ser que aproximadament el 15% d'aquest conjunt van sobre expressar COX-2 però no van trobar diferències significatives entre el tipus cel·lular (T o B), la mida de les cèl·lules (grans o petites) o el grau del tumor. També es va observar que 6 (13,6%) de 44 limfomes, 3 de cèl·lules B i uns altres 3 de les cèl·lules T, van tenir una expressió molt alta de COX-2<sup>73</sup> (Figura 18.).



**Figura 18. Expressió de COX-2 en limfonodes de gossos. A: Limfoma de cèl·lules B amb immunoreactivitat moderada-intensa de COX-2 en el citoplasma i al voltant de la membrana nuclear dels limfoblasts malignes. B: Limfoma de les cèl·lules T amb tinció de les cèl·lules neoplàsiques i, en canvi, les cèl·lules no neoplàsiques de la perifèria són COX-2 negatives<sup>73</sup>.**

*Extret de Asproni P, Vignoli M, Cancedda S, Millanta F, Terragni R, Poli A. 2014.*

### Sarcoma histiocític

Hi ha molt poca informació respecte aquest tipus de tumors, només hi ha un article al 2005 que en faci referència<sup>59</sup>. En aquest treball es van incloure fins a 20 casos de sarcoma histiocític diferents on la majoria de biòpsies van ser de la melsa. En aquest cas, tots els gossos tenien la malaltia disseminada en el moment del diagnòstic i, conseqüentment, no es va poder determinar el lloc d'origen del tumor. Només un dels casos va ser positiu a l'expressió de COX-2 amb una alta intensitat<sup>59</sup>.

## Tumors del sistema nerviós

Els tumors del sistema nerviós central (SNC) es troben de forma freqüent en gossos i gats tot i que són més comuns en gossos<sup>14</sup>.

La majoria de tumors encefàlics són tumors primaris que s'originen del parènquima del nerviós (ex: cèls. glials i neurones) o d'altres cèl·lules que formen part d'altres estructures dintre el SNC (plexus corioideu, vasos sanguinis, epiteli endimari). El meningioma és el tumor intracraneal més freqüent en gossos i gats, tot i que els gliomes també són freqüents en gossos<sup>14</sup>.

Tot i que la COX-2 normalment es troba absent en la majoria de teixits, l'encèfal és un dels llocs on s'expressa de forma normal<sup>17</sup> i, en aquest cas, la seva expressió no es troba induïda per l'estimulació de diferents mediadors de la inflamació (Figura 19<sup>74</sup>).

### **Glioma**

En un estudi retrospectiu es van identificar 20 gliomes canins: 11 (55%) oligodendrogliomes, 1 (5%) oligoastrocitoma i 8 (40%) astrocitomes. No es va trobar sobre-expressió de la COX-2 i conseqüentment els inhibidors de COX-2 són, en principi, inefectius contra els gliomes canins<sup>75</sup>.

### **Meningioma**

Per altra banda, en un estudi amb 24 gossos amb meningioma es va observar una expressió elevada de COX-2 en la majoria dels casos (87%). En els 21 casos positius, la immunoreactivitat enfront COX-2 va ser irregular i multifocal, limitada al citoplasma de les cèl·lules neoplàsiques i d'intensitat lleu a moderada. No va haver-hi diferències significatives d'immunoreactivitat de COX-2 entre els graus I i II<sup>74</sup> (Figura 19).

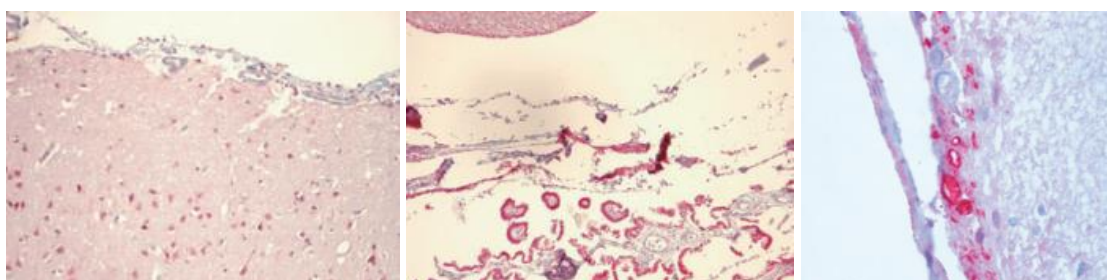


Figura 19. Immunoreactivitat de COX-2, en teixits cerebrals, en gossos control. Esquerra: Les neurones cerebrocorticals mostren tinció de COX-2 abundant i intensitat variable en el citoplasma. Es pot observar una zona d'immunoreactivitat de COX-2 multifocal a la part superior de la imatge. Mig: Immunoreactivitat intensa i uniforme en el citoplasma de les cèl·lules del plexe corioideu. Dreta: Immunoreactivitat de COX-2 multifocal i desigual a les cèl·lules aracnoides i de l'endoteli de les meninges<sup>74</sup>.

Extret de Rossmeisl JH, Robertson JL, Zimmerman KL, Higgins MA, Geiger DA. 2013.

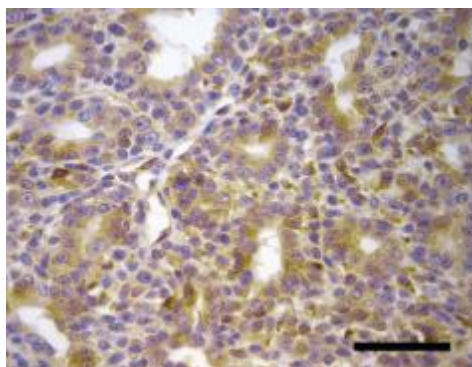
## 9.2. En gats

### Tumors epitelials

#### Tumors de mama

En gats no és un tumor tant freqüent com en les gosses, tot i això és el tercer tumor amb més freqüència després dels tumors de pell i el limfoma. Els tumors mamaris felins representen aproximadament el 12% de tots els tumors en aquesta espècie i el 17% dels tumors en femelles. La majoria són malignes en una relació malignitat:benignitat de 9:1 i 4:1 segons diferents autors<sup>27</sup>.

En els teixits mamaris felins sans només es va trobar una baixa expressió de COX-2 (17%) , lleugerament inferior a la observada en teixits hiperplàsics (COX-2 = 18%, EP2 = 32%) (Figura 20)<sup>28</sup>.



**Figura 20. IHC de l'expressió de COX-2 en un carcinoma mamari de l'espècie felina. Hi ha una positivitat moderada-intensa citoplasmàtica a les cèl·lules epitelials neoplàsiques<sup>28</sup>.**

*Extret de Millanta F, Asproni P, Canale A, Citi S, Poli A. 2016*

Trobem controvèrsies en diferents estudis sobre l'expressió de COX-2 en els tumors de mama felins. Un primer estudi va determinar 9 adenocarcinomes mamaris felins negatius a COX-2<sup>76</sup>. Per contra, altres autors havien trobat una expressió de la COX-2 en carcinomes mamaris felins de fins al 87% (en 40 casos), els quals un 50% de casos amb baixa expressió, un 32% amb expressió intermèdia i un 5% amb alta<sup>77</sup>.

Posteriorment, Millanta et al.<sup>28</sup> va trobar un 96%, de 50 casos, d'expressió de COX-2 i una expressió elevada en el 82% dels tumors.

En quan als marcadors, Millanta et al. va trobar una correlació poc evident entre l'expressió de COX-2 i el receptor EP2 (un dels receptors de la PG) però significativa. També es va trobar una relació entre l'expressió de COX-2 i l'angiogènesi tumoral i una pitjor prognosi<sup>30</sup>.

Per altra banda l'expressió de COX-2 és significativament superior en les metàstasis que en els tumors primaris. L'expressió de COX-2 es troba correlacionada amb el TMS<sup>78</sup>.

Des de la última revisió feta per M. Doré<sup>17</sup>, l'any 2011, no s'han publicats nous articles sobre aquest tema en gats.

#### *Carcinoma de les cèl·lules transicionals*

Un sol estudi va determinar que el 37% de 19 CCTs de la bufeta urinària en gats van ser positius a la immunoreactivitat de COX-2. Tota els tumors estaven ben diferenciats amb diferents patrons incloent-hi el papil·lar i infiltratiu, el no papil·lar i infiltratiu i el glandular i infiltratiu. La localització de COX-2 es trobava principalment en el citoplasma de les cèl·lules<sup>76</sup>.

#### *Carcinoma de les cèl·lules escamoses*

El CCE és el tumor oral més comú, representant entre el 70-80% de tots els tumors orals en l'espècie felina. Es tracta d'un tumor maligne amb creixement local molt agressiu i elevat risc de recurrència, requerint generalment varies cirurgies per a la seva exèresi complerta<sup>79</sup>.

#### ***Cutanis***

M. Doré comenta que un estudi en gats va trobar només un 9% d'expressió de COX-2 ens els CCEs, amb menys d'un 10% de les cèl·lules amb tinció positiva. Posteriorment, Hayes et al. va determinar un 67% de CCEs orals positius però la majoria amb menys de l'1% de les cèl·lules.

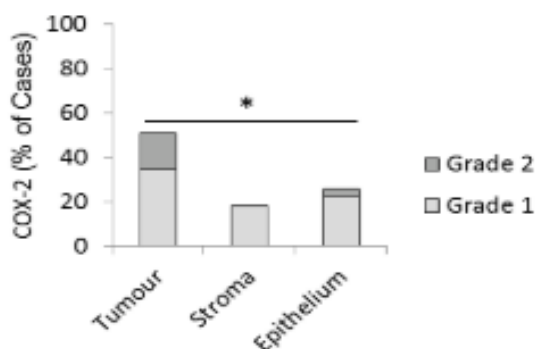
Un altre estudi, DiBernardi et al, també va tenir dades semblants (18% d'expressió de COX-2 amb alta intensitat)<sup>17</sup>.

Posteriorment a aquestes publicacions, un estudi de l'any 2012 va determinar que el 77% de 77 gats amb CCE van mostrar expressió de COX-2 associada a inflamació granulocítica. Aquests resultats van ser del primer estudi que demostrava l'expressió de COX-2 en el CCE cutani felí<sup>50</sup>.

### **Orals**

En el cas dels CCEs orals felins, un estudi recent va trobar una expressió de COX-2 en general baixa. Aquesta expressió es trobava majoritàriament en les cèl·lules tumorals, i no tant a l'epiteli o a l'estroma. Un 34% de les mostres de cèl·lules tumorals van mostrar una baixa intensitat d'expressió, un 16% una intensitat moderada i la resta elevada.<sup>80</sup>

Un altre estudi força recent sobre el CCE oral, realitzat el 2018, comenta que es va detectar una expressió de COX-2 en 9 de 12 casos (75%) amb un cas d'una expressió força elevada de COX-2. En aquest mateix estudi també es va trobar una tinció de les cèl·lules positiva tant en l'estroma com a l'epiteli del tumor i aquestes semblaven ser fibroblasts, basant-se en la morfologia. I aquest és el primer estudi de CCE feli que troba una tinció positiva a l'estroma (Figura 21)<sup>81</sup>.



**Figura 21. Expressió de COX-2 en mostres de CCE felins emprant IHQ. Els resultats han sigut obtinguts a partir de 43 mostres<sup>81</sup>.**

*Extret de Sparger EE, Murphy BG, Kamal FM, et al. 2018*

En general podem afirmar que hi ha diferents controvèrsies entre els articles comentats i tot i que l'enzim COX-2 sembla un marcador força important però cal tenir en compte que es necessiten més estudis per acabar de determinar la seva significació en els CCE felins.

### **Altres tumors d'origen epitelial**

L'expressió de COX-2 s'ha trobat a l'epiteli glandular i superficial de l'endometri normal. En gats amb adenocarcinoma endometrial s'hi ha trobat un 39.4% de baixa expressió, un 30.3 d'expressió mitjana, i un 22.2% d'alta expressió, en 33 casos en total. Només era absent en un 9.1% dels casos. I recentment, s'ha trobat que la COX-2 es troba relacionada amb la secreció de TNF alfa, induït per la PG, en les cèl·lules de l'endometri en gats<sup>82</sup>.

Els adenocarcinomes pulmonars/intestinals s'han reportat com a COX-2 negatius en gats<sup>17</sup>.

Un estudi va determinar que 2 de 8 adenocarcinomes pancreàtics tenien expressió de COX-2 amb menys d'un 10% de cèl·lules positives<sup>17</sup>.

## **Tumours mesenquimals**

### **Sarcoma en el punt d'injecció (Fibrosarcoma felí)**

Va ser descrit per primera vegada l'any 1991 i des de llavors s'ha vist que és molt agressiu. A més, és una variant del fibrosarcoma amb una alta mortalitat<sup>27</sup>.

Un estudi del 2003 no va trobar expressió de COX-2 en diferents sarcomes associats al punt d'injecció<sup>17</sup>. Tot i això, estudis més recents han trobat un 56.4% d'expressió de COX-2 en 117 sarcomes en punt d'injecció<sup>83</sup>.

Hi ha una correlació entre el grau d'inflamació i l'expressió de COX-2 en les cèl·lules neoplàsiques<sup>83</sup>.

## **Tumors de cèl·lules rodones**

### **Limfoma:**

Els limfomes s'han reportat com a COX-2 negatius en gats<sup>17</sup>. Tampoc se n'ha trobat l'expressió a la làmina pròpia de l'intestí en els gats control (tres sans i cinc malalts sense patologies intestinals), però en canvi sí que se n'ha trobat a l'epiteli del duodè, jejú i ili d'aquest grup control<sup>84</sup>.

Un estudi publicat l'any 2018 va trobar diferències significatives sobre l'expressió de COX-2 de dos grups diferents de gats, el primer grup no tenia cap malaltia en canvi, el segon, tenien una malaltia inflamatòria de l'intestí (IBD) o un limfoma intestinal de baix grau. No va trobar diferències significatives sobre l'expressió de COX-2, però, entre els dos grups amb malaltia<sup>84</sup>.

En aquest estudi, es va trobar una expressió de COX-2 del 82% en gats amb IBD i del 67% amb el limfoma intestinal de baix grau. En concret, se'n va trobar expressió a l'epiteli del duodè, jejú i ili, però no se'n va trobar a la làmina pròpia de l'intestí en aquests gats<sup>84</sup>.

## **Tumors del sistema nerviós**

### **Meningioma:**

Un estudi recent del principal tumor intracraneal en gats, el meningioma, va determinar que tots els 15 tumors estudiats (8 de baix grau i 7 d'alt grau) van expressar COX-2 tot i que aquesta expressió es trobava correlacionada significativament de forma positiva amb el grau de necrosi, però no es van observar correlacions significatives entre l'expressió de COX-2 i el grau histològic del tumor<sup>85</sup>.

## 10. TRACTAMENT DE TUMORS MITJANÇANT INHIBIDORS DE COX-2

### 10.1. En gossos

La majoria d'AINES utilitzats clàssicament a la pràctica clínica diària actuen de forma no selectiva inhibint els dos tipus de COX (COX-1 i COX-2) i, per tant, són inhibidors no selectius de COX. En canvi, els COXIBS, una nova generació d'AINES, permeten la inhibició selectiva de la COX-2. Això comporta una millora en el tractament de patologies inflamatòries a llarg plaç i de tumors, entre d'altres patologies, ja que el tractament continu amb AINES no selectius pot derivar en certs efectes adversos secundaris en diferents òrgans.

Com s'ha comentat anteriorment, la COX-1 també denominada forma constitutiva, s'expressa principalment al ronyó, al sistema gastrointestinal i a l'endoteli vascular, on participa en mecanismes homeostàtics relacionats amb la protecció de la mucosa gàstrica, el manteniment del flux renal, l'agregació plaquetària i la migració de neutròfils. En canvi, la COX-2 només es troba de forma constitutiva al cervell i al ronyó, mentre que la seva expressió en altres òrgans s'indueix en resposta a un procés inflamatori. És aquesta la causa dels efectes adversos dels AINES no selectius, ja que no només afecten a la COX-2, sinó també a la COX-1.

Els principals efectes adversos dels inhibidors no selectius de COX són els trastorns gastrointestinals i renals. A nivell gastrointestinal la inhibició de COX-1 provoca una disminució en la síntesi de PGE<sub>2</sub> i PGI<sub>2</sub> que dona lloc a un augment en la secreció gàstrica i alteració dels elements de la barrera de la mucosa gàstrica, donant lloc a ulceracions de la mucosa<sup>86</sup>. A nivell renal la utilització contínua d'AINES provoca una disminució del flux renal ja que els productes derivats de la COX-1 juguen un paper fonamental en la vasodilatació, disminució de la resistència vascular renal i augment de la perfusió de l'òrgan<sup>87</sup>.

Per altra banda, un inconvenient destacable que tenen els inhibidors selectius de COX-2 és que no tenen propietats antitrombòtiques ja que les plaquetes expressen primàriament la COX-1 i, per tant la seva utilització pot donar lloc a un desequilibri del balanç protrombòtic/antitrombòtic de la superfície endotelial dels vasos<sup>87</sup>.

Aquests tipus de fàrmacs s'inclouen freqüentment en la teràpia metronòmica antitumoral ja que comparteixen part dels mecanismes d'acció atribuïts a fàrmacs citotòxics en baixes dosis<sup>88</sup>. També s'usen sols o en combinació amb quimioteràpia. En la Taula 6 es presenten els AINES selectius i no selectius utilitzats més freqüentment en medicina veterinària.

**Taula 6. Dosis habituals i segures en l'àmbit sanitari pel tractament de tumors, en general, en gossos amb els principals inhibidors de COX<sup>89</sup>:**

<b>Fàrmacs no selectius</b>	<b>Dosis</b>
Meloxicam	0.2mg/kg/24h (1r dia de tractament), 0.1mg/kg/24h
Piroxicam	0.3mg/kg/24h o 0.5mg/kg/48h
Carprofè	2mg/kg/12h o 4mg/kg/24h
<b>Fàrmacs selectius de COX-2</b>	<b>Dosis</b>
Deracoxib	1 – 2mg/kg/24h
Firocoxib	5mg/kg/24h



## Tumors epitelials

### Tumors de mama

En quan al tractament del tumor de mama, el principal és la intervenció quirúrgica, l'extensió de la qual es marca per l'estadiatge clínic del pacient i el grau histològic del tumor. En el cas que el candidat no sigui apte per la cirurgia es procedeix a un tractament mèdic pal·liatiu mitjançant AINES i quimioteràpia<sup>2</sup>.

Fins al moment no hi ha nombrosos estudis sobre el tractament del tumor de mama caní amb inhibidors de COX-2 i alguns d'ells són *in vitro*.

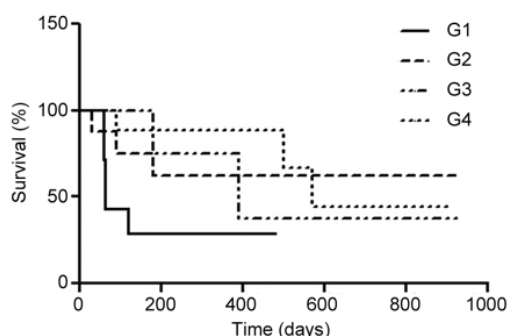
Un estudi en gosses amb CIMC va determinar un TMS de 171 – 183 dies en els gossos tractats amb piroxicam, a diferència de 6-7 dies en els gossos tractats amb doxorubicina i ciclofosfamida (Taula 10). Fins al moment, s'han trobat diferències significatives en el TMS de gossos amb tumor de mama tractats amb piroxicam i tractats amb doxorubicina<sup>90</sup>.

Un altre estudi amb 29 gosses va avaluar el TMS d'aquestes segons el tractament que s'havia realitzat (Taula 7, Figura 22). Hi havia diferents tipus de tumors i tot i que es van analitzar microscòpicament no es van relacionar els tipus de tumors segons el TMS. Un dels animals de l'estudi va tenir efectes adversos durant la teràpia amb piroxicam amb resultat de mort per gastroenteritis hemorràgica aguda<sup>91</sup>.

**Taula 7. Comparació de les característiques, dosis i TMS dels diferents grups de tractament en 29 gosses amb tumor de mama.**

Grup	Característiques	Dosis	TMS
1 (n=7)	No tractament	-	63 dies
2 (n=8)	Cirurgia + 3 cicles de carboplatí	300mg/m <sup>2</sup> q21d	ND
3 (n=5)	Cirurgia + 3 cicles de carboplatí + piroxicam	300mg/m <sup>2</sup> q21d + 0.3mg/kg q24h durant 6 mesos	390 dies
4 (n=9)	Cirurgia + 3 cicles de carboplatí + Previcox (firocoxib)	300mg/m <sup>2</sup> q21d + 5mg/kg q24h durant 6 mesos	570 dies

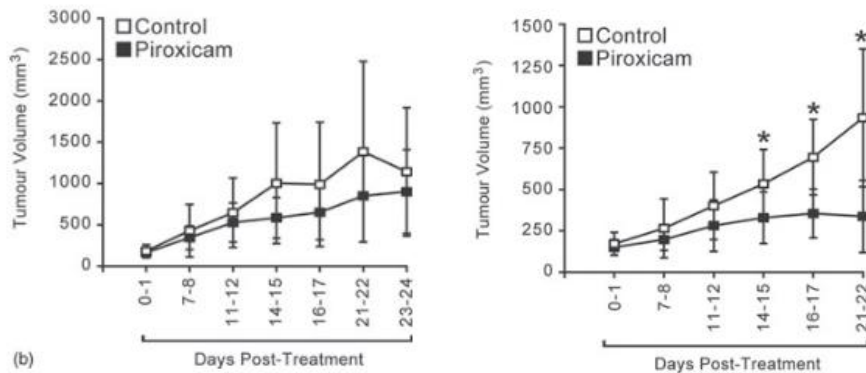
Extret de Lavalle GE, De Campos CB, Bertagnolli AC, Cassali GD. 2019.



**Figura 22. TMS de 29 gosses segons el tipus de tractament establert<sup>91</sup>.**

Extret de Lavalle GE, De Campos CB, Bertagnolli AC, Cassali GD. 2019.

Un estudi en ratolins xenotransplantats amb carcinomes mamaris canins va comparar l'efecte dels tractament mitjançant el piroxicam (0.6mg/kg), el deracoxib (6mg/kg) i un grup control (sense tractament). El volum dels tumors entre els 0 i 24 dies post-tractament era menor amb el grup tractat amb piroxicam, malgrat no es van veure diferències significatives entre grups. Més tard es va provar amb dosis més altes de piroxicam (0.9mg/kg) i el volum dels tumors entre els 14 i 21 dies post-tractament va ser significativament més baix amb el grup tractat amb piroxicam que el grup control (Figura 23)<sup>92</sup>.

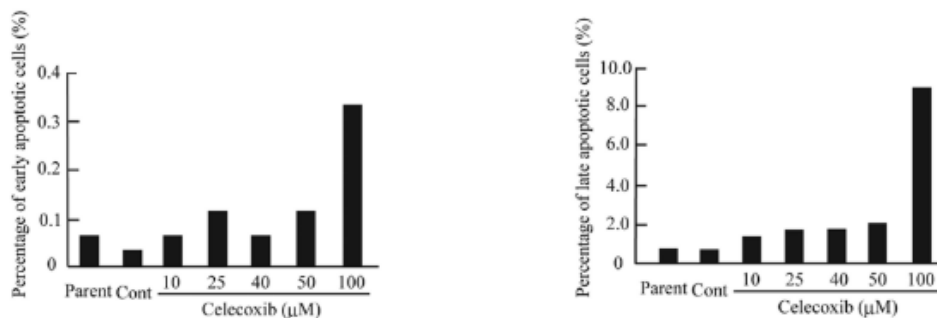


**Figura 23. Evolució del volum tumoral en xenografts amb el grup control i el grup amb piroxicam a diferents punts del tractament. A l'esquerra: Piroxicam (0.6mg/kg PO q24h). A la dreta: Piroxicam (0.9mg/kg PO q24h).**

**\*Diferències estadísticament significatives en comparació amb el grup control<sup>92</sup>.**

*Extret de Sonzogni-Desautels K, Knapp DW, Sartin E, Doré M. 2011*

Un estudi *in vitro* de tumor de mama en gossos (Figura 24) demostra que els inhibidors COX-2 selectius, especialment el celecoxib, inhibeixen la proliferació cel·lular del tumor mamari caní. A més, el celecoxib provoca en major proporció l'apoptosi cel·lular en comparació amb l'etodolac i el meloxicam<sup>93</sup>.



**Figura 24. El tractament amb celecoxib disminueix el ratio de supervivència de les cèl·lules del tumor mamari caní i augmenta l'apoptosi d'aquestes. 20.000 cèl·lules analitzades<sup>93</sup>.**

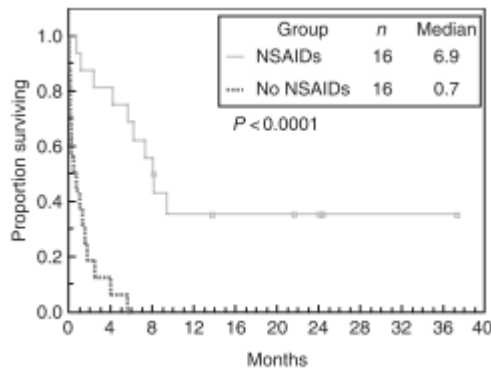
*Extret de Saito T, Tamura D, Asano R. 2014.*

Sembla ser doncs, que el piroxicam és un bon fàrmac per augmentar el TMS en gossos amb carcinoma mamari a dosis de 0.3mg/kg PO q24h malgrat alguns estudis *in vitro* demostren que es necessita una dosi força alta (0.9mg/kg/ PO q24h) per aconseguir una disminució significativa del volum del tumor<sup>92</sup>.

### Carcinoma prostàtic

La majoria de gossos es diagnostiquen del carcinoma prostàtic en un estat molt avançat de la malaltia. El TMS en aquests casos normalment és de menys de 30 dies sense tractament. El principal tractament consisteix en el control de malaltia mitjançant AINES<sup>14</sup>.

Un estudi amb 32 gossos va provar diferents tractaments per determinar la supervivència dels gossos amb carcinoma prostàtic. Tots els gossos van ser tractats durant un mes, després del diagnòstic. Els gossos tractats amb piroxicam i carprofè van tenir un TMS (6.9 mesos) superior als gossos que no eren tractats (0.7 mesos). També es van trobar diferències significatives en el TMS en gossos tractat amb AINES que tenien metàstasi en comparació amb els que no en tenien<sup>39</sup> (Figura 25).



**Figura 25. TMS de 32 gossos amb carcinoma prostàtic amb el tractament amb AINES (piroxicam/carprofè) o sense tractament<sup>39</sup>**

*Extret de Sorenmo KU, Goldschmidt MH, Shofer FS, Goldkamp C, Ferracone J. 2004.*

Fins al moment no hi ha més investigacions sobre el tractament amb inhibidors de COX-2 en els carcinomes prostàtics en gossos.

#### Carcinoma de cèl·lules transicionals

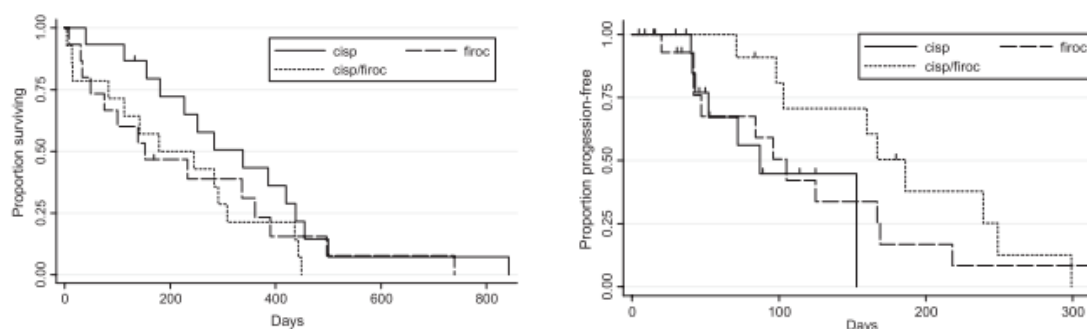
En el cas dels CCTs s'intenta fer una resecció quirúrgica en cas que el tumor estigui localitzat i sigui possible tot i que s'ha d'anar en compte de no provocar la disseminació del tumor a la cavitat abdominal o a la zona de la cirurgia. No obstant, la majoria de gossos requereix teràpia adjuvant post-quirúrgica mitjançant teràpia metronòmica, quimioteràpia o de forma menys freqüent, radioteràpia. Les recomanacions actuals es basen en una teràpia amb piroxicam com a únic fàrmac administrat a dosis de 0.3mg/kg PO cada 24 hores, o una combinació de piroxicam i mitoxantrona<sup>94</sup>.

Hi ha diferents estudis que avaluen el tractament de CCT amb inhibidors de COX-2 (Taula 8) i l'estudi més antic que es va fer sobre la resposta al tractament en gossos amb CCT data del 1992. Aquest estudi va determinar que el piroxicam té una activitat antitumoral en aquests casos (2 remissions completes, 4 remissions parcials, 18 estabilitats de la malaltia i 10 de progressió de la malaltia). En quan als efectes adversos derivats de l'administració continua de piroxicam en aquests pacients, es van reportar alteracions gastrointestinals en 6 gossos (17,6%) i necrosi papil·lar renal en 2 gossos (5.9%) d'aquest estudi (detectat a la necròpsia)<sup>3</sup>.

En un altre estudi, es va administrar piroxicam com a únic tractament però en el cas d'aparició de signes de toxicitat gastrointestinal (en 2 gossos, 11.1%) s'hi afegia un anàleg de la PG. El tractament tenia un mes de duració, en el qual es va agafar mostra de la mida del tumor abans i després del tractament. El resultat van ser 0 remissions completes, 6 remissions parcials, 9 estabilitats de la malaltia i 3 progressions de la malaltia<sup>46</sup>.

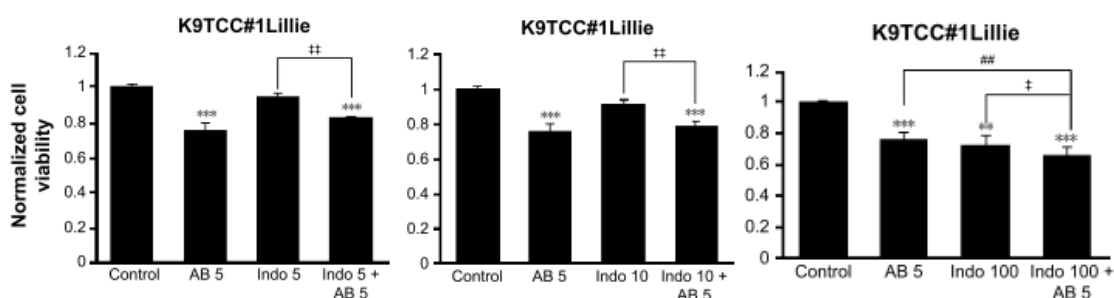
Per altra banda, també s'ha observat que el piroxicam té efectes antitumorals en el CCT<sup>90</sup> tot i que no s'ha trobat una correlació estadísticament significativa entre l'expressió de COX-2 o la concentració de PGE2 en el tumor i la resposta del tumor al tractament amb piroxicam<sup>46</sup>.

Pel que fa referència a la utilització d'inhibidors selectius de la COX-2, un estudi va determinar que la remissió del tumor va ser considerablement més elevada amb el tractament de cisplatin + firocoxib (57%) que amb el de cisplatin (13%). Per altra banda, el firocoxib va induir una remissió parcial en un 20% dels casos i va estabilitzar la malaltia en el 33%<sup>95</sup>. Per tant, sembla ser que el firocoxib té efectes antitumorals *per se* i es pot considerar un tractament pal·liatiu o adjuvant en gossos amb CCT de la bufeta urinària (Figura 26).



**Figura 26.** Curves de Kaplan-Meier en gossos tractats amb cisplatí, firocoxib o una combinació dels dos fàrmacs. L'esquema esquerra mostra els dies de supervivència. La dreta mostra l'interval lliure de progressió (PFI)<sup>95</sup>.  
Extret de Knapp DW, Henry CJ, Widmer WR, et al. 2013.

En un estudi recent amb cèl·lules del CCT caní de la bufeta de l'orina, *in vitro*, es va provar el co-tractament amb masitinib + indometacina (inhibidor no selectiu de COX) a 5, 10 o 100  $\mu$ M (Figura 27). S'ha vist que inhibeix l'expressió de COX-2 i que provoca un efecte additiu en la inhibició de la viabilitat cel·lular i la producció de PGE2 sobre cèl·lules tumorals de CCT<sup>96</sup>.



**Figura 27.** Co-tractament amb masitinib (AB) i indometacina en cèl·lules de CCT caní *in vitro* amb concentracions de 5, 10 i 100  $\mu$ M<sup>96</sup>.  
Extret de Bourn J, Cekanova M. 2018

Un altre estudi, també *in vitro*, va determinar que el Fluorocoxib A penetra al citoplasma de les cèl·lules transicionals del carcinoma de la bufeta urinària i s'uneix específicament a la COX-2, localitzada a les àrees perinuclears<sup>44</sup>.

Finalment, sembla que el tractament del CCT amb inhibidors de COX, tant selectius (p.e. firocoxib, fluorocoxib) com no selectius (p.e. piroxicam) pot ajudar a una remissió del tumor, ja sigui parcial o completa, i/o una estabilització de la malaltia.

**Taula 8.** Comparació de tres estudis del CCT diferents segons el tractament.

Tractament	Dosi	RC (%)	RP (%)	Malaltia estable (%)	Progressió de la malaltia (%)	Referència
Piroxicam (n=34)	0.3mg/kg PO SID	2 (5.9)	4 (11.8)	18 (51.3)	10 (29.4)	3
Piroxicam (n=18)		0 (0)	6 (33.3)	9 (50)	3 (16.7)	46
Cisplatí (n=15)	60mg/m <sup>2</sup> IV cada 21d	0 (0)	2 (13)	8 (53)	4 (27)	95
Firocoxib (n=15)	5mg/kg/24h PO	0 (0)	3 (20)	5 (33)	4 (27)	
Cisplatí + firocoxib (n=15)	60mg/m <sup>2</sup> IV cada 21d + 5mg/kg/24h PO	0 (0)	8 (57)	3 (21)	0 (0)	

RC (Remissió completa del tumor) i RP (Remissió parcial del tumor).

### Carcinoma de les cèl·lules escamoses

El tractament del CCE depèn considerablement de la localització anatòmica del tumor. En aquest cas i ha pocs estudis sobre el tractament amb inhibidors de COX, i els que existeixen es centren en els tumors localitzats a la cavitat oral.

Hi ha diferents estudis que han provat el tractament del CCE mitjançant inhibidors de COX (Taula 9). Un estudi realitzat el 2001 en 17 gossos amb CCE oral (maxil·lar, lingual i de tonsil·les) va provar un tractament amb piroxicam a dosis de 0.3mg/kg PO cada 24h fins la progressió de la malaltia o l'aparició de signes de toxicitat,. Un dels gossos va presentar una completa remissió del tumor, 2 van presentar una remissió parcial i 5 una estabilització de la malaltia. Els 3 gossos que van respondre amb una remissió del tumor van presentar un TMS d'entre 180 i 223 dies, lleugerament superior a l'observat en els animals amb una estabilització de la malaltia (102 i 223 dies)<sup>97</sup>.

La combinació de piroxicam i cisplatin té activitat antitumoral ja que, en un estudi, es va administrar la combinació dels 2 fàrmacs en gossos amb CCE oral i va haver-hi una remissió del tumor en 5 de 9 gossos<sup>98</sup>. A més, en un altre estudi es va observar un temps de supervivència superior en gossos tractats amb piroxicam + cisplatin (390d) que tractat amb piroxicam sol (45d i 150d)<sup>99</sup>.

**Taula 9. Comparació de estudis de CCE diferents segons el tractament.**

Tractament	RC (%)	RP (%)	Malaltia estable (%)	Progressió de la malaltia (%)	Referència
<b>Piroxicam (n=17)</b>	1 (5.88)	2 (11.8)	5 (29.4)	9 (52.9)	97
<b>Piroxicam + cisplatin (n=9)</b>	5 (55.6)	-	-	-	98
<b>Piroxicam (n=5)</b>	0	3 (60)	-	-	99

RC (Remissió completa del tumor), RP (Remissió parcial del tumor).

Un estudi *in vitro* mitjançant cèl·lules de CCE va investigar la resposta al tractament mitjançant diferents dosis de piroxicam (0, 50, 100 i 200 µM) o celecoxib (0, 5, 10 i 50 µM) com a tractament únic o en combinació amb masitinib (5 µM). Els resultats obtinguts van demostrar que el co-tractament de masitinib amb piroxicam o celecoxib va ser més efectiu que el tractament a masitinib sol. En relació a la comparació entre els dos AINEs utilitzats, el piroxicam va produir una inhibició cel·lular superior al celecoxib<sup>55</sup>.

Sembla doncs, que el piroxicam és un fàrmac d'ajuda en el tractament del CCE en combinació amb el cisplatin o el masitinib ja que s'ha vist que l'administració conjunta augmenta el número de remissions del tumor i augmenta la inhibició de les cèl·lules tumorals.

Per concloure aquest subapartat es mostra una taula resum (Taula 10) dels tumors epitelials ja comentats anteriorment.

Taula 10. Resum dels tumors epitelials: Fàrmacs i dosis utilitzats, el TMS

Tumors epitelials	Fàrmac	Dosi	TMS	Referència
Mamari	Piroxicam	0.3mg/kg/24h PO	171 – 183 dies	90
	Doxorubicina	30mg/m2/24h PO	6 – 7 dies	
	Ciclofosfamida	200mg/m2/24h PO		
	No tractament	-	63 dies	91
	Cirurgia + 3 cicles de carboplatí	300mg/m2 q21d	ND	
	Cirurgia + 3 cicles de carboplatí + piroxicam	300mg/m2 q21d + 0.3mg/kg q24h durant 6 mesos	390 dies	
	Cirurgia + 3 cicles de carboplatí + Previcox (firocoxib)	300mg/m2 q21d + 5mg/kg q24h durant 6 mesos	570 dies	
Carcinoma prostàtic	Piroxicam	0.3mg/kg/24h PO	6.9 mesos	39
	Carprofè	2.2mg/kg/12h PO		
	No tractats	-	0.7 mesos	
CCT	Piroxicam	0.3mg/kg/24h PO	ND	46
	Piroxicam	0.3mg/kg PO SID	181 dies	3
	Cisplatin	60mg/m2 IV cada 21d	338 dies (PFI 87d)	95
	Firocoxib	5mg/kg/24h PO	152 dies (PFI 105d)	
	Cisplatin + Firocoxib	60mg/m2 IV cada 21d + 5mg/kg/24h PO	179 dies (PFI 186d)	
CCE oral	Piroxicam	0.3mg/kg PO cada 24h	180 – 223d 102 – 223d	97
	Piroxicam + cisplatin	0.3 mg/kg PO cada 24h + 50mg/m2	ND	98
	Piroxicam	0.5 mg/kg PO cada 48h	45d	99
	Piroxicam	0.3 mg/kg PO cada 24h	150d	
	Cisplatin + piroxicam	ND + 0.3 mg/kg PO cada 24h	390d	

PFI (Progresion free interval), des del primer dia de tractament fins que es produeix la progressió de la malaltia. TMS: temps mitg de supervivència. ND (No determinat).

### Tumors mesenquimals (sarcomes)

#### Hemangiosarcoma

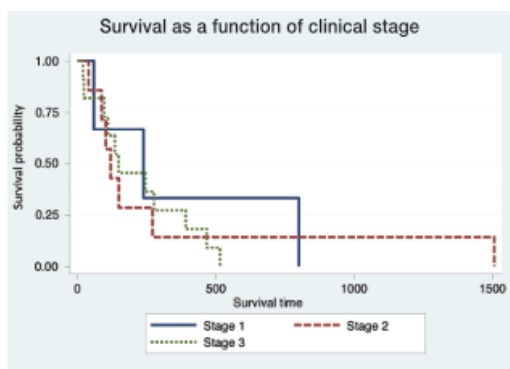
La cirurgia és considerat el tractament d'elecció per aquest tipus de tumors però a causa del elevat potencial de metastàtic es generalment necessari administrar un tractament adjuvant posteriorment a la cirurgia de resecció.. De fet, el TMS en gossos amb HSA esplènic, amb la cirurgia com a únic tractament, és de 19 a 86 dies. Per altra banda, en el cas de l'HSA cutani sense invasió a la hipodermis amb resecció quirúrgica s'aconsegueix un TMS de 780 dies<sup>94</sup>.

## Esplènic

En un estudi amb 21 gossos amb HSA classificats segons l'estadi clínic I – III (I en el cas del tumor a la melsa, II amb extravasació als limfonodes i III amb metastasi), se'ls va fer una esplenectomia i després de la cirurgia es va començar el tractament amb doxorubicina cada 21 dies, en un total de 5 vegades, un cop per setmana. I 7 dies després de començar amb la doxorubicina, es va afegir el deracoxib, un cop al dia. En aquest cas es va observar una supervivència mitja de 150 dies<sup>100</sup>.

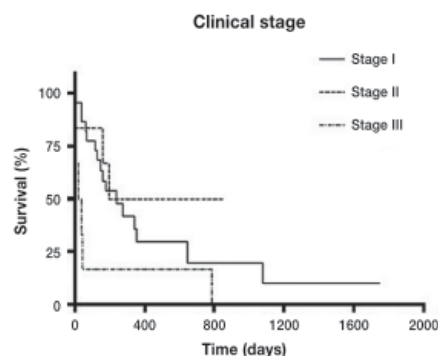
Per poder saber la rellevància de l'estudi amb doxorubicina i deracoxib, s'ha buscat diferents estudis d'HSA esplènic amb tractament amb esplenectomia i doxorubicina, i el TMS és de 169 dies<sup>101</sup> i de 274 dies<sup>102</sup>.

Si comparem les diferències en el TMS i l'estadi clínic de la malaltia de gossos tractats amb doxorubicina + deracoxib i gossos tractats amb doxorubicina, veiem que no hi ha diferències significatives en els gossos tractats amb doxorubicina i deracoxib (Figura 28), és a dir, no s'ha pogut relacionar que com més elevat és l'estadi clínic de la malaltia menys TMS hi ha. En canvi, en els gossos tractats amb només doxorubicina si que s'ha vist diferències significatives, s'ha relacionat un major temps de supervivència en estadis més baixos (Estadi I) de la malaltia (Figura 29).



**Figura 28.** Funció de Kaplan-Meier sense diferències significatives ( $P=0.89$ ) entre el TMS i l'estadi clínic de la malaltia. Gossos amb el tractament de doxorubicina + deracoxib<sup>100</sup>.

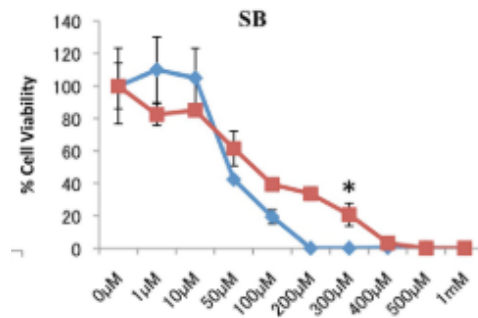
Extret de Kahn SA, Mullin CM, De Lorimier LP, et al. 2013



**Figura 29.** Funció de Kaplan-Meier en gossos diagnosticats amb estadi I, II i III d'HSA ( $P=0.0457$ ). Gossos tractats amb doxorubicina<sup>102</sup>.

Extret de Batschinski K, Nobre A, Vargas-Mendez E, et al. 2019.

En un altre estudi s'ha comparat l'activitat del carprofè i el mavacoxib en cèl·lules *in vitro* d'HSA caní. S'ha vist que el mavacoxib inhibeix la viabilitat cel·lular en IC50 (Concentració inhibidora màxima mitja) i indueix l'apoptosi, a més, en aquest cas el carprofè inhibeix la proliferació cel·lular amb menys dosi en comparació amb el mavacoxib (Figura 30)<sup>23</sup>.



**Figura 30.** Inhibició de la proliferació de cèl·lules in vitro, de HSA caní, amb diferents concentracions de mavacoxib (línia vermella) i carprofè (línia blava)<sup>23</sup>. \*Diferències significatives estadísticament  
Extret de Pang LY, Argyle SA, Kamida A, Morrison KO, Argyle DJ. 2014.

En aquest cas sembla ser que utilitzar inhibidors selectius de COX-2 no té efectes molt significatius en el TMS ja que no varia molt si afegim aquest tipus de fàrmacs al tractament habitual basat en esplenectomia + doxorubicina.

### **Cutani**

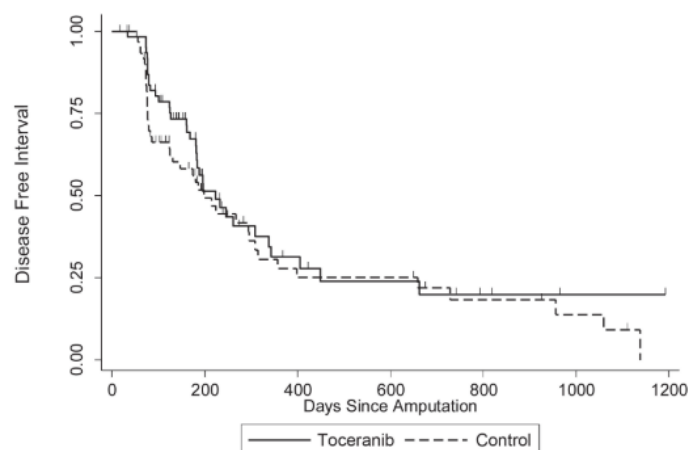
En el cas de l'HSA cutani, s'ha vist que el TMS mig és de 12 mesos, sent lleugerament superior en races predisposades<sup>60</sup>. No obstant, no hi ha estudis del tractament de HSA cutani mitjançant AINES.

### Osteosarcoma

Actualment, els AINES són d'utilitat pel control del dolor i millorar la qualitat de vida de l'animal en els gossos amb osteosarcoma i els d'elecció són els inhibidors de COX-1 ja que redueixen els efectes adversos de la malaltia<sup>94</sup>.

El TMS dels gossos amb osteosarcoma amb amputació i quimioteràpia és, de mitjana, de 12 mesos, segons un estudi publicat l'any 2016 a la revista AAHA<sup>25</sup>.

En estudi amb 126 gossos amb osteosarcoma apendicular tractats amb amputació i teràpia de carboplatí, seguida en 63 casos amb toceranib i en els altres 63 casos amb piroxicam es va observar un interval mig lliure de malaltia (DFI) (Figura 31) de 215 dies. El TMS va ser d'aproximadament un any de vida després del començament del tractament en els dos grups i, a més, va ser molt semblant a altres estudis de gossos amb OSA amb amputació i quimioteràpia amb carboplatí (Taula 11)<sup>103</sup>, no continuada amb teràpia mitjançant AINES.



**Figura 31.** DFI. n=63 gossos control; n=63 gossos tractats amb toceranib<sup>103</sup>.  
Extret de London CA, Gardner HL, Mathie T, et al. 2015.



Es van observar diferents efectes adversos com cistitis provocada per la ciclofosfamida, episodis de vòmits i diarrea, augment de les transaminases i debilitat, entre d'altres. El grup tractat amb toceranib va mostrar més efectes adversos que el grup tractat amb piroxicam+ciclofosfamida (Taula 11)<sup>103</sup>.

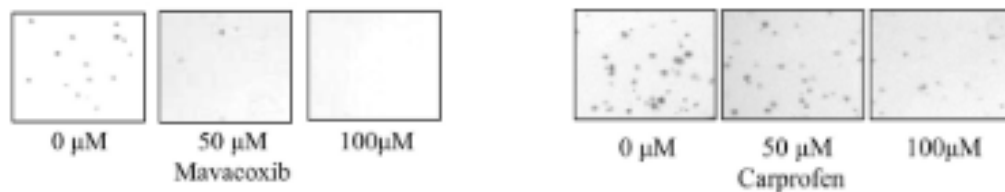
**Taula 11. Comparació de dos tractaments diferents en un estudi<sup>103</sup>.**

Tractament	OS (dies)	DFI (dies)	SR 1 any(%)
<b>Piroxicam + ciclofosfamida</b>	242	215	34.9
<b>Toceranib</b>	318	233	38.4

**OS (Overall Survival), DFI (Disease Free Interval), SR (Survival Rate).**

Extret de London CA, Gardner HL, Mathie T, et al. 2015.

El mavacoxib té acció citotòxica contra les cèl·lules d'osteosarcoma caní en un estudi *in vitro*. També és capaç d'induir l'apoptosi de cèl·lules cancerígenes i a altes dosis inhibeix millor la invasió cel·lular que el carprofè<sup>23</sup> (Figura 32).



**Figura 32. Estudi de la inhibició de l'habilitat de formació de colònies de cèl·lules d'osteosarcoma caní. El mavacoxib és millor que el carprofè<sup>23</sup>.**

Extret de Pang LY, Argyle SA, Kamida A, Morrison KO, Argyle DJ. 2014.

No s'han trobat més estudis sobre el tractament d'osteosarcoma caní mitjançant inhibidors de COX.

Seria interessant provar una teràpia amb inhibidors selectius de COX-2 ja que s'ha vist que el mavacoxib indueix l'apoptosi i inhibeix la proliferació de les cèl·lules d'osteosarcoma. Per altra banda, també s'ha vist que un tractament amb meloxicam i ciclofosfamida té menys efectes adversos que el toceranib i un TMS semblant al tractament amb quimioteràpia.

### Sarcoma de teixits tous

Segons un estudi publicat a l'AAHA, els sarcomes de teixits tous tenen un DFI <12 mesos amb el tractament quirúrgic únic i en cas d'afegir-hi radioteràpia el TMS pot ser d'entre 1 i 2 anys<sup>25</sup>.

En un estudi, el DFI post cirurgia en gossos amb sarcoma de teixits tous va ser de 211 dies en gossos sense tractament, en canvi amb els gossos tractats amb piroxicam i ciclofosfamida, de 410 dies (Figura 33)<sup>104</sup>.

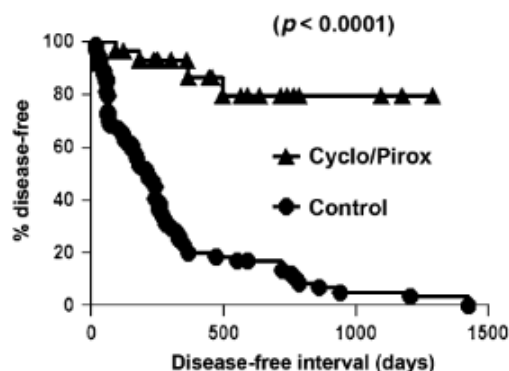


Figura 33. DFI. Grup control, n=55; grup tractat, n=30<sup>104</sup>.

Extret de Elmslie RE, Glawe P, Dow SW. 2008.

A causa del tractament es van manifestar alguns efectes adversos com anorèxia (17%), vòmits (6%), augment de la creatinina (7%) i cistitis hemorràgica (10%)<sup>104</sup>.

Per concloure aquest subapartat es mostra una taula resum (Taula 12) dels tumors mesenquimals ja comentats anteriorment.

Taula 12. Resum dels diferents tumors mesenquimals en diferents tractaments segons el fàrmac i dosi utilitzat i el TMS.

Tumors mesenquimals	Fàrmac	Dosi	TMS	Referència
HSA esplènic	Cirurgia + Doxorubicina	30mg/m2 cada 21d	150 dies	100
	+ Deracoxib (7d després)	1 – 2.1 mg/kg/dia		
	Cirurgia	-	66 dies	102
	Cirurgia + Doxorubicina	30 mg/m2 (PV>15kg) IV cada 21d (6 dosis) 1 mg/kg (PV<15kg) IV cada 21d (6 dosis)	274 dies	
	Cirurgia + Doxorubicina	30mg/m2IV cada 14d	DFI = 138d MST = 169	101
Osteosarcoma	Piroxicam + ciclofosfamida	0.3mg/kg/48h PO + 10mg/m2 PO/48h	242 dies	103
	Toceranib	2.73 mg/kg EOD	318 dies	
Sarcoma de teixits tous	Piroxicam + ciclofosfamida	0.3mg/kg PO q24h + 10mg/m2 PO q24h	DFI=410 dies	104
	Grup control: Sense tractament	-	DFI=211 dies	

## Tumors de cèl·lules rodones

### Melanoma

#### **Oral**

Actualment la radioteràpia fraccionada és útil per tractar gossos amb melanoma oral. Per altra banda, també es fa servir la quimioteràpia amb carboplatí com a tractament, ja que augmenta el TMS en els pacients en els que no s'ha pogut fer una resecció completa del tumor<sup>94</sup>. Tot i això hi ha un parell d'estudis en quant al tractament de melanomes orals mitjançant inhibidors de COX els resultats dels quals es descriuen a continuació.

Alguns melanomes orals expressen COX-2 però el tractament amb cisplatí i piroxicam en gossos amb melanomes orals té poca eficàcia, amb una remissió en 2 de 9 gossos (22%)<sup>98</sup>.

Un estudi *in vitro* amb cèl·lules de melanoma maligne caní suggereix que el celecoxib pot ser efectiu com a teràpia metronòmica per al tractament d'aquests tumors ja que a baixes dosis va mostrar efectes antitumorals contra les cèl·lules amb alta expressió de COX-2<sup>105</sup>.

No s'han trobat més estudis sobre el tractament del melanoma en gossos amb inhibidors de COX.

### Mastocitoma

En aquest cas es fa cirurgia seguida de tractaments adjuvants (radiació, quimioteràpia o teràpia metronòmica) en funció de la localització de la massa, el número de masses, el grau histològic del tumor i la presència o absència de cèl·lules neoplàsiques marginals infiltrant els marges quirúrgics i/o metàstasi<sup>94</sup>.

En un estudi de cèl·lules *in vitro* de MCT caní es va demostrar que el mavacoxib induïx l'apoptosi de les cèl·lules cancerígenes i inhibeix la proliferació cel·lular d'aquestes. A més, aquestes cèl·lules van ser les més sensibles al mavacoxib amb un IC50 de 29.3 µM, en comparació amb la resta de cèl·lules de l'estudi (osteosarcoma, glioma, limfoma i HSA)<sup>23</sup>.

No s'ha trobat cap més estudi que relacioni el tractament dels MCTs en gossos amb inhibidors de COX.

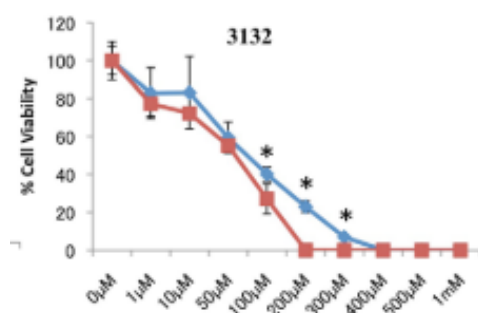
### Limfoma

En quant al tractament del limfoma hi ha diferents protocols de quimioteràpia que es poden dur a terme. El protocol COP utilitza com a fàrmacs la ciclofosfamida, la vincristina i la prednisona. Un altre tipus de protocol, el CHOP, hi afegeix la doxorubicina. I, finalment, el protocol de manteniment empra el clorambucil, el metotrexat i la prednisona<sup>49</sup>.

Un estudi va avaluar l'efecte del tractament del limfoma utilitzant la combinació de doxorubicina i piroxicam o piroxicam com a únic tractament i va determinar que no hi ha diferències significatives entre els dos tipus de tractament<sup>106</sup>.

El celecoxib incrementa l'apoptosi cel·lular dependent i independent de COX-2 en estudis *in vitro* i en models ratolins. El Mavacoxib augmenta l'apoptosi cel·lular dependent de COX-2 en estudis *in vitro*<sup>107</sup>.

Un estudi *in vitro* va determinar que l'IC50 en cèl·lules cancerígenes de limfoma caní va ser de 36.5 µM amb el Mavacoxib i de 63.5 µM amb el carprofè (Figura 34)<sup>23</sup>.



**Figura 34. Inhibició de la proliferació de cèl·lules in vitro, de limfoma caní, amb diferents concentracions de mavacoxib (línia vermella) i carprofè (línia blava)<sup>23</sup>.**

*Extret de Pang LY, Argyle SA, Kamida A, Morrison KO, Argyle DJ.2014.*

Sembla que el mavacoxib i el meloxicam són bons fàrmacs per utilitzar com a tractament del limfoma caní amb o sense combinació amb altres fàrmacs.

Per concloure aquest subapartat es mostra una taula resum (Taula 13) dels tumors de cèl·lules rodones ja comentats anteriorment.

**Taula 13. Resum del tractament de tumors de cèl·lules rodones en gossos segons el fàrmac i les dosis, el temps de la remissió del tumor i l'DFI segons l'article corresponent.**

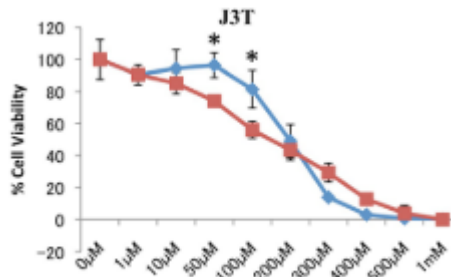
Tumors de cèl·lules rodones	Fàrmac	Dosi	Remissió del tumor	DFI	Referència
Melanoma oral	Cisplatí + piroxicam	50mg/m <sup>2</sup> + 0.3mg/kg, PO, q24h	2/11	-	98
Linfoma multicèntric	Doxorubicina + Piroxicam	30 mg/m <sup>2</sup> , IV, q 21 d (3 dosis) + 0.3 mg/kg, PO, q 24 h	79%	130 dies	106
	Grup control: Doxorubicina	30 mg/m <sup>2</sup> , IV, q 21 d (3 dosis)	74%	147 dies	

## Tumors del sistema nerviós

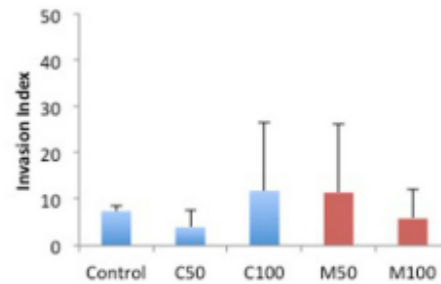
### Glioma

La resecció quirúrgica, la quimioteràpia i la radioteràpia són els tractaments més utilitzats en aquest tipus de tumor. En el cas de la quimioteràpia amb nitrosurea s'han aconseguit TMS d'entre 7 i 11 mesos; amb la radioteràpia, de 6 a 10 mesos i amb el tractament pal·liatiu amb corticosteroides, 52 dies<sup>94</sup>.

En un estudi s'ha comparat l'activitat del carprofè i el mavacoxib en cèl·lules *in vitro*. En el glioma caní s'ha vist que el mavacoxib inhibeix la viabilitat cel·lular amb IC50 (Concentració inhibidora mitja). Tot i això s'ha vist que no hi ha diferències en quant a la capacitat d'invasió cel·lular entre el grup control i els tractats amb AINES no selectius o selectius (Figura 35 i Figura 36<sup>23</sup>).



**Figura 35.** Efecte del Mavacoxib. Inhibició de les cèl·lules de glioma caní (J3T) en un estudi in vitro. La viabilitat cel·lular està comptabilitzada a les 48h post-tractament. La línia blava representa el carprofè i la línia vermella el mavacoxib. \* $p < 0.05$  suggereix diferències significatives entre el mavacoxib i el carprofè mitjançant l'anàlisi estadístic t de Student<sup>23</sup>.  
Extret de Pang LY, Argyle SA, Kamida A, Morrison KO, Argyle DJ.2014.



**Figura 36.** Cèl·lules de glioma caní, in vitro, tractades amb carprofè (C) i mavacoxib (M) a les dosis indicades (50 μM, 100 μM) a les 48h post-tractament<sup>23</sup>.  
Extret de Pang LY, Argyle SA, Kamida A, Morrison KO, Argyle DJ.2014.

No s'ha trobat cap més estudi sobre el glioma caní o altres tumors del sistema nerviós que facin referència al seu tractament amb fàrmacs inhibidors de COX.

## 10.2 En gats

### Tumors epitelials

#### Tumor de mama

La quimioteràpia mitjançant doxorubicina augmenta el TMS en gats amb carcinoma mamari i és la més utilitzada per al tractament d'aquest tipus de tumors. És possible que altres agents fàrmacs, com els inhibidors de COX-2, puguin servir com a coadjuvants<sup>77</sup>.

Un estudi retrospectiu de 23 casos d'adenocarcinomes mamaris felins no va trobar cap diferència en el TMS amb altres estudis utilitzant meloxicam en combinació amb cirurgia i quimioteràpia basada amb la doxorubicina. No obstant, l'expressió de COX-2 en els tumors no va ser determinada<sup>108</sup>.

Per altra banda, es van produir diferents efectes adversos, principalment anorèxia en un total de 5 casos (21,7%). També es van observar episodis de vòmits en dos gats (8.7%) just després de l'administració del meloxicam, neutropènia en 4 casos (17.4%) i, finalment, azotèmia en 3 casos (13%)<sup>108</sup>.

Són necessaris més estudis per determinar l'eficàcia dels inhibidors de COX-2 en el carcinoma mamari felí.

#### *Carcinoma de cèl·lules escamoses*

El tractament en gats diagnosticats amb CCE oral inclou cirurgia combinada segons el cas amb radioteràpia o quimioteràpia, malgrat tot i desafortunadament els tractaments actuals no són gaire efectius en l'augment de la supervivència<sup>109</sup>.

La utilització d'inhibidors selectius de COX-2 pot tenir varis beneficis pel tractament dels CCE orals pel que fa a la disminució del dolor, reducció de la inflamació associada a la neoplàsia i efectes contra el càncer com seria l'estabilització tumoral o la resposta a la malaltia<sup>79</sup>.

Segons un article els gats amb CCE oral són bons candidats pel tractament amb meloxicam ja que hi ha altres estudis en gats que han vist beneficis del meloxicam a baixes dosis (0.01 – 0.03mg/kg q24h) tot i ser amb altres patologies<sup>79</sup>.

En un estudi amb 54 gats amb CCE oral, el TMS va ser de 44 dies després de la presentació del tumor. Es van provar diferents tractaments (11 gats van rebre AINES abans del diagnòstic, 11 després i 7 abans i després del diagnòstic) però sense arribar a cap conclusió ja que no es va diferenciar els TMS segons el tipus de tractament<sup>110</sup>.

En un altre estudi es va practicar cirurgia, radioteràpia i tractament mèdic combinat amb meloxicam, bleomicina i talidomida a 6 gats amb CCE oral. Els gats van tolerar bé el tractament i es va aconseguir una remissió completa del tumor en 5/6 gats. El TMS va ser de 218 dies (51 - 365 dies) desde l'inici del tractament<sup>111</sup>.

Per concloure aquest subapartat es mostra una taula resum (Taula 14) dels tumors epitelials en gats ja comentats anteriorment.

**Taula 14. Taula resum dels tractaments dels tumors epitelials en gats segons el fàrmac, la dosi, el TMS, el DFI (interval lliure de malaltia) i la referència a l'article.**

Tumors epitelials	Fàrmac	Dosi	TMS	DFI	Ref.
Adenocarcinoma Mamari	Doxorubicina + meloxicam	1mg/kg IV cada 3 setm. + 0.1mg/kg SC q24h durant 5d i 0.025mg/kg PO q24h	460 dies	269 dies	108
CCE oral	Bleomicina	10 UI/m2 SC cada 7 dies	218 dies	-	111
	Piroxicam	0.3 mg/kg PO q24h			
	Talidomida	2 mg/kg PO q24h			

## Tumors mesenquimals

### Sarcoma en el punt d'injecció (Fibrosarcoma felí)

El sarcoma del punt d'injecció és un tumor localment molt agressiu amb elevada possibilitat de recurrència, fins i tot després de la resecció quirúrgica amb marges amplis i nets. Tot i que el tractament d'elecció en aquests casos és la cirurgia radical amb un ampli marge excisional, els protocols que inclouen inhibidors de la COX-2 podrien ser útils per tal de reduir la mida del tumor abans de la cirurgia, augmentar el TMS en tumors inoperables i allargar el període lliure de tumors (entre recurrències) quan la cirurgia radical no és factible<sup>83</sup>.

Malgrat el possible potencial benefici del tractament d'aquests tumors mitjançant inhibidors de COX-2 no hi ha estudis al respecte.

## 11. DISCUSSIÓ I CONCLUSIONS

Des de fa molt anys ja s'estudiava el paper de la inflamació en el càncer en humans i, més tard, en els animals de companyia. Per altra banda, també estava demostrat que alguns tumors tenen una sobreexpressió de COX-2 tot i no saber-ne el perquè.

Actualment, hi ha nombrosos estudis que avaluen el nivell d'expressió de COX-2 en els tumors dels animals de companyia, tot i que és necessari seguir amb les investigacions ja que hi ha tumors que no se n'ha avaluat mai l'expressió i per tant no s'han pogut incloure en el treball.

És complicat determinar el nivell d'expressió de COX-2 en alguns teixits sans ja que hi ha estudis amb resultats contradictoris. És cert que l'expressió d'aquest enzim es troba, de forma normal, en els teixits com la placenta, el cervell i els ronyons, però també hi ha determinats estudis, tot i que molt puntuals, que han trobat expressió a la pròstata<sup>21</sup>, en els sacs anals<sup>43</sup> i a la tiroides<sup>57</sup> en condicions normals.

En gossos s'ha trobat un nivell d'expressió de COX-2 elevat, de tumors epitelials, en el tumor mamari, de pròstata, intestinal, dels sacs anals, CCT i CCE (cutani i nasal); de tumors mesenquimals, l'HSA cutani i l'osteosarcoma; de tumors de cèl·lules rodones, el melanoma oral i el MCT; i finalment de tumors del sistema nerviós, el meningioma. I s'ha vist que existeixen controvèrsies entre diferents estudis en quant a l'expressió de COX-2 en casos de carcinoma epitelial i el tumor de tiroides.

En gats s'ha observat un nivell d'expressió de COX-2 elevat en l'adenocarcinoma endometrial, el limfoma intestinal i el meningioma. I en el cas del carcinoma mamari, el CCE i el sarcoma del punt d'injecció existeixen resultats contradictoris entre els diferents estudis.

En quant a la correlació de l'expressió de COX-2 amb altre paràmetres, en el carcinoma mamari caní s'ha vist que hi ha una correlació entre l'expressió de COX-2 i el grau histològic del tumor, la invasió limfàtica, la classificació TNM, l'índex mitòtic, l'índex Ki-67, el VEGF i la presència de limfòcits T CD3+.

En el carcinoma mamari felí l'expressió de COX-2 es troba relacionada amb el receptor EP2, l'angiogènesi tumoral i una pitjor prognosi. En el CCE caní l'expressió de COX-2 es troba relacionada amb la progressió de la malaltia però no se'n troba amb la invasió limfàtica, el grau histològic, l'índex Ki-67, la recurrència dels tumors i la proliferació cel·lular. En els osteosarcomes canins s'ha vist que l'expressió de COX-2 es elevada en cèl·lules mare intratumorals. En el melanoma caní s'ha vist que hi ha una correlació positiva entre el grau i intensitat de COX-2 amb la presència de necrosi, úlceres i inflamació, un elevat índex mitòtic, el factor VIII, el Ki-67, el CD3+, el MAC387 i el VEGF (aquest últim només en intensitat). En el MCT caní s'ha vist una correlació de COX-2 amb la mida del tumor, la ulceració de la pell, el patró de creixement, la intensitat de COX-2, la quantitat d'estroma i de cèl·lules multinuclears, l'índex mitòtic, el Ki-67 i l'augment de la densitat dels microvasos.

El tractament amb AINEs, tant selectius com no selectius, es util en alguns tipus de tumors. Sembla que implementar un AINE com el meloxicam a dosis de 0.3mg/kg o un inhibidor selectiu com el firocoxib o el celecoxib cada 24 hores en el tractament del carcinoma mamari caní produeix un augment en el TMS. En el carcinoma prostàtic caní és útil ja que s'ha vist que els gossos no tractat tenen un TMS de 0.7 mesos, en canvi els tractat amb piroxicam i carprfè és de 6.9 mesos. Als anys 90 ja van començar a fer-se estudis sobre el CCT caní, el CCE caní i AINES i, per tant, són un tipus de tumor que s'han estudiat força al llarg dels anys i s'ha vist que un tractament pal·liatiu o una teràpia metronòmica amb AINES selectius i/o no selectius són d'ajuda a la remissió del tumor i a disminuir la progressió malaltia. En el sarcoma de teixits tous caní també és útil ja que el TMS en gossos sense tractament és de 211 dies i amb piroxicam i

ciclofosfamida augmenta fins a 410 dies, de mitjana. En el melanoma oral caní s'ha vist que el tractament amb cisplatí i piroxicam es relaciona amb una remissió del tumor en un 22% dels casos. En gats, s'ha pogut observar que el tractament amb AINES del CCE té efectes positius ja que redueix el dolor i la inflamació però no s'ha vist un augment en el TMS.

Per altra banda hi ha alguns tumors en els quals s'ha vist que el tractament amb AINES no és útil ja que no té efectes significatius en el transcurs de la malaltia. En aquest cas són, en gossos, l'HSA esplènic, l'osteosarcoma, MCT i el limfoma. I en gats podem trobar els tumors de mama.

I, finalment, alguns tumors s'haurien de seguir investigant perquè s'ha vist expressió de COX-2 però no hi ha estudis al respecte. En gossos són el càncer intestinal, tumor de tiroides i HSA cutani; i en gats són el sarcoma de punt d'injecció, el CCT, el limfoma intestinal i el meningioma.



## 12. BIBLIOGRAFIA

1. Morris J, Dobson J. *Small Animal Oncology*. 1ra edició. Blackwell Publishing Ltd; 2001.
2. Dobson JM, Lascelles BD. *Manual Práctico de Oncología En Pequeños Animales*. [L'Hospitalet de Llobregat] : Ediciones S; 2014. [https://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C\\_\\_Rb1343380\\_\\_Smanual de oncología en pequeños animales\\_\\_Orightresult\\_\\_U\\_\\_X7?lang=cat](https://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C__Rb1343380__Smanual de oncología en pequeños animales__Orightresult__U__X7?lang=cat). Accessed May 2, 2019.
3. Knapp DW, Richardson RC, Chan TCK, et al. Piroxicam Therapy in 34 Dogs With Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. *J Vet Intern Med*. 1994. doi:10.1111/j.1939-1676.1994.tb03232.x
4. Gonzalez H. El Acido Araquidónico Y La Respuesta Inflamatoria H. *Acta médica Colomb*. 1987;4(3):298-303.
5. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Review Immunity , Inflammation , and Cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-899. doi:10.1016/j.cell.2010.01.025
6. Nickoloff BJ, Ben-neriah AY, Pikarsky E. Inflammation and Cancer : Is the Link as Simple as We Think ? *J Invest Dermatol*. 2005;124(6):x-xiv. doi:10.1111/j.0022-202X.2005.23724.x
7. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Free Radical Biology & Medicine Oxidative stress , in inflammation , and cancer : How are they linked ? *Free Radic Biol Med*. 2010;49(11):1603-1616. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006
8. Regulski M, Regulska K, Pukała W, Piotrowska H, Stanisław B, Murias M. COX-2 inhibitors: a novel strategy in the management of breast cancer. *Dr Regulski, M, Regulska, K, Pukała, W, Piotrowska, H, Stanisław, B, Murias, M (2016) COX-2 Inhib a Nov Strateg Manag breast cancer Drug Discov Today, 21(4), 598-615* <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2015.12.003> *Discov.* 2016;21(4):598-615. doi:10.1016/J.DRUDIS.2015.12.003
9. Zachary JF. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. [St Louis, Missouri] : Elsevier Inc.,; 2017. [http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C\\_\\_Rb1344252\\_\\_SPathologic basis veterinary disease\\_\\_Orightresult\\_\\_U\\_\\_X7?lang=cat](http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C__Rb1344252__SPathologic basis veterinary disease__Orightresult__U__X7?lang=cat). Accessed April 4, 2019.
10. Wong RSY. Apoptosis in cancer : from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30(1):87. doi:10.1186/1756-9966-30-87
11. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med*. 1986;315(26):1650-1659. doi:10.1056/NEJM198612253152606
12. Yoshitake R, Saeki K, Watanabe M, et al. Molecular investigation of the direct anti-tumour effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in a panel of canine cancer cell lines. *Vet J*. 2017;221:38-47. doi:10.1016/j.tvjl.2017.02.001
13. van der Wall EE. Increasing recognition of NHJ: A first-time impact factor of 1.4! *Netherlands Hear J*. 2010;18(9):399. doi:10.1007/BF03091804
14. Withrow SJ, Vail DM, Page RL. *Small Animal Clinical Oncology*. St. Louis, Missouri : Elsevier/Saunders; 2013. [http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C\\_\\_Rb1340078\\_\\_Ssmall animals clinical oncology\\_\\_Orightresult\\_\\_U\\_\\_X1;jsessionid=84CB377CC208D27A10C9E4C7916FBE6E?la](http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C__Rb1340078__Ssmall animals clinical oncology__Orightresult__U__X1;jsessionid=84CB377CC208D27A10C9E4C7916FBE6E?la)

ng=cat. Accessed May 2, 2019.

15. Clària, J. Ferré, N., Gonzáles-Pérez, A., Horrillo, R., López-parra M. Papel de los mediadores lipídicos derivados del ácido araquidónico en la inflamación y la fibrogénesis hepática. *Gastroenterol Hepatol*. 2007;30(Supl 1):88-98.
16. Cantú S, Lee J, Donoso A, Puyó A, Peredo H. El Ácido Araquidónico Y Sus Derivados. Generalidades De Los Prostanoides En Relación Con Procesos Inflamatorios. *Cienc Invest*. 2017;67(4).
17. Doré M. Cyclooxygenase-2 expression in animal cancers. *Vet Pathol*. 2011;48(1):254-265. doi:10.1177/0300985810379434
18. Jim E. Riviere and Mark G. Papich. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. tenth. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons Inc.,; 2018. [http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C\\_\\_Rb1245721\\_\\_SVeterinary Pharmacology & Therapeutics\\_\\_Orightresult\\_\\_X7;jsessionid=10F8BADD68BB994D6095BF62E8CFC043?lang=cat](http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C__Rb1245721__SVeterinary+Pharmacology+&+Therapeutics__Orightresult__X7;jsessionid=10F8BADD68BB994D6095BF62E8CFC043?lang=cat). Accessed April 4, 2019.
19. Nørregaard R, Kwon TH, Frøkiær J. Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in the kidney. *Kidney Res Clin Pract*. 2015. doi:10.1016/j.krcp.2015.10.004
20. Ricciotti E, Fitzgerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):986-1000. doi:10.1161/ATVBAHA.110.207449
21. Baek SJ, McEntee MF, Legendre AM. Review paper: Cancer chemopreventive compounds and canine cancer. *Vet Pathol*. 2009. doi:10.1354/vp.08-VP-0238-B-REV
22. Salehifar E, Hosseinimehr SJ. The use of cyclooxygenase-2 inhibitors for improvement of efficacy of radiotherapy in cancers. *Drug Discov Today*. 2016. doi:10.1016/j.drudis.2016.02.019
23. Pang LY, Argyle SA, Kamida A, Morrison KO, Argyle DJ. The long-acting COX-2 inhibitor mavacoxil (Trocoxil™) has anti-proliferative and pro-apoptotic effects on canine cancer cell lines and cancer stem cells in vitro. *BMC Vet Res*. 2014;10(1). doi:10.1186/s12917-014-0184-9
24. Takeda H, Sonoshita M, Oshima H, et al. Cooperation of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in intestinal polyposis. *Cancer Res*. 2003;63(16):4872-4877. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12941808>. Accessed September 22, 2019.
25. Bryan C, Ruslander D, Biller B, et al. 2016 AAHA Oncology Guidelines for Dogs and Cats. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2016;52(4):181-204. doi:10.5326/jaaha-ms-6570
26. Kumar N, Drabu S, Mondal SC. NSAID's and selectively COX-2 inhibitors as potential chemoprotective agents against cancer. 1st Cancer Update. *Arab J Chem*. 2013;6(1):1-23. doi:10.1016/j.arabjc.2011.07.020
27. Lane A. Tumors in domestic animals, 5th edn. Edited by DJ Meuten. Wiley-Blackwell, 2016. 1000 pages. Price A\$321.95. ISBN 9780813821795. *Aust Vet J*. 2018;96(12):507-507. doi:10.1111/avj.12624
28. Millanta F, Asproni P, Canale A, Citi S, Poli A. COX-2, mPGES-1 and EP2 receptor

- immunohistochemical expression in canine and feline malignant mammary tumours. *Vet Comp Oncol*. 2016. doi:10.1111/vco.12096
29. Huang J, Zhang D, Xie F, Lin D. The potential role of COX-2 in cancer stem cell-mediated canine mammary tumor initiation: An immunohistochemical study. *J Vet Sci*. 2015. doi:10.4142/jvs.2015.16.2.225
  30. Millanta F, Citi S, Della Santa D, Porciani M, Poli A. COX-2 expression in canine and feline invasive mammary carcinomas: Correlation with clinicopathological features and prognostic fmolecular markers. *Breast Cancer Res Treat*. 2006. doi:10.1007/s10549-005-9138-z
  31. Clemente M, Sánchez-Archidona AR, Sardón D, et al. Different role of COX-2 and angiogenesis in canine inflammatory and non-inflammatory mammary cancer. *Vet J*. 2013;197(2):427-432. doi:10.1016/j.tvjl.2013.02.009
  32. Araújo MR, Campos LC, Damasceno KA, Gamba CO, Ferreira E, Cassali GD. Research in Veterinary Science HER-2 , EGFR , Cox-2 and Ki67 expression in lymph node metastasis of canine mammary carcinomas : Association with clinical-pathological parameters and overall survival. *YRVSC*. 2016;106:121-130. doi:10.1016/j.rvsc.2016.03.020
  33. Queiroga FL, Pires I, Parente M, Gregório H, Lopes CS. COX-2 over-expression correlates with VEGF and tumour angiogenesis in canine mammary cancer. *Vet J*. 2011. doi:10.1016/j.tvjl.2010.06.022
  34. Carvalho MI, Pires I, Prada J, Ferreira AF, Queiroga FL. Positive interplay between CD3<sup>+</sup> T-lymphocytes and concurrent COX-2/EGFR expression in canine malignant mammary tumors. *Anticancer Res*. 2015;35(5):2915-2920.
  35. Camacho L, Peña L, Gil AG, Martín-Ruiz A, Dunner S, Illera JC. Immunohistochemical Vascular Factor Expression in Canine Inflammatory Mammary Carcinoma. *Vet Pathol*. 2014;51(4):737-748. doi:10.1177/0300985813503568
  36. Caceres S, Peña L, DeAndres PJ, et al. Establishment and characterization of a new cell line of canine inflammatory mammary cancer: IPC-366. *PLoS One*. 2015;10(3). doi:10.1371/journal.pone.0122277
  37. Henry F. L'Eplattenier, Chen Li Lai, Rene' van den Ham, Jan Mol, Frederick van Sluijs and ET. Regulation of COX-2 Expression in Canine Prostate Carcinoma: Increased COX-2 Expression is Not Related to Inflammation. *J Vet Intern Med*. 2007.
  38. Press AIN. Expression of cyclooxygenase-1 and 2 in naturally-occurring canine cancer \$. 2004;70:479-483. doi:10.1016/j.plefa.2003.10.002
  39. Sorenmo KU, Goldschmidt MH, Shofer FS, Goldkamp C, Ferracone J. Evaluation of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 expression and the effect of cyclooxygenase inhibitors in canine prostatic carcinoma. *Vet Comp Oncol*. 2004;2(1):13-23. doi:10.1111/j.1476-5810.2004.00035.x
  40. McEntee MF, Cates JM, Neilsen N. Cyclooxygenase-2 expression in spontaneous intestinal neoplasia of domestic dogs. *Vet Pathol*. 2002;39(4):428-436. doi:10.1354/vp.39-4-428
  41. Sorenmo K, H Goldschmidt M, S Shofer F, Goldkamp C, Ferracone J. *Evaluation of Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2 and the Effect of Cyclooxygenase Inhibitors in*

*Canine Prostatic Carcinoma*. Vol 2.; 2004. doi:10.1111/j.1476-5810.2004.00035.x

42. Knottenbelt C, Mellor D, Nixon C, Thompson H, Argyle DJ. Cohort study of COX-1 and COX-2 expression in canine rectal and bladder tumours. *J Small Anim Pract*. 2006;47(4):196-200. doi:10.1111/j.1748-5827.2006.00094.x
43. Knudsen CS, Williams A, Brearley MJ, Demetriou JL. COX-2 expression in canine anal sac adenocarcinomas and in non-neoplastic canine anal sacs. *Vet J*. 2013. doi:10.1016/j.tvjl.2013.05.005
44. Cekanova M, Uddin MJ, Bartges JW, et al. Molecular imaging of cyclooxygenase-2 in canine transitional cell carcinomas In Vitro and In Vivo. *Cancer Prev Res*. 2013. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-12-0358
45. Grassinger J, Merz S, Aupperle-Lellbach H, et al. Correlation of BRAF Variant V595E, Breed, Histological Grade and Cyclooxygenase-2 Expression in Canine Transitional Cell Carcinomas. *Vet Sci*. 2019;6(1):31. doi:10.3390/vetsci6010031
46. Mutsaers AJ, Mohammed SI, DeNicola DB, et al. Pretreatment tumor prostaglandin E2 concentration and cyclooxygenase-2 expression are not associated with the response of canine naturally occurring invasive urinary bladder cancer to cyclooxygenase inhibitor therapy. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*. 2005;72(3):181-186. doi:10.1016/j.plefa.2004.10.017
47. Sledge DG, Patrick DJ, Fitzgerald SD, Xie Y, Kiupel M. Differences in Expression of Uroplakin III , in Canine Proliferative Urothelial Lesions of the Urinary Bladder. 2015;52(1):74-82. doi:10.1177/0300985814522819
48. Rathore K, Cekanova M. Animal model of naturally occurring bladder cancer : Characterization of four new canine transitional cell carcinoma cell lines. 2014;14(1):1-10. doi:10.1186/1471-2407-14-465
49. Couto G, Moreno N. *Oncología Canina y Felina : De La Teoría a La Práctica*. Zaragoza : Servet;; 2013. [http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C\\_\\_Rb1363863\\_\\_Soncolog%EDa canina y felina servet\\_\\_Orighresult\\_\\_U\\_\\_X1;jsessionid=6B9E626C3A8ACE9F8E633FDFAB61CFD7?lang=cat](http://discovery.udl.cat/iii/encore/record/C__Rb1363863__Soncolog%EDa canina y felina servet__Orighresult__U__X1;jsessionid=6B9E626C3A8ACE9F8E633FDFAB61CFD7?lang=cat). Accessed May 2, 2019.
50. Bardagí M, Fondevila D, Ferrer L. Immunohistochemical Detection of COX-2 in Feline and Canine Actinic Keratoses and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *J Comp Pathol*. 2012. doi:10.1016/j.jcpa.2011.03.012
51. Millanta F, Andreani G, Rocchigiani G, Lorenzi D, Poli A. Correlation Between Cyclooxygenase-2 and Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Canine and Feline Squamous Cell Carcinomas. *J Comp Pathol*. 2016;154(4):297-303. doi:10.1016/j.jcpa.2016.02.005
52. Prada J, Queiroga FL, Greg H. Evaluation of Cyclooxygenase-2 Expression in Canine Mast Cell Tumours. 2012;147. doi:10.1016/j.jcpa.2011.09.007
53. Castro P, Ram GA. ScienceDirect Collision Tumour of Squamous Cell Carcinoma and Malignant Melanoma in the Oral Cavity of a Dog. 2016;154:314-318. doi:10.1016/j.jcpa.2016.03.004

54. Poggiani SDSC, Hatayde MR, Laufer-Amorim R, Werner J. Expression of Cyclooxygenase-2 and Ki-67 in Actinic Keratosis and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in Dogs. *Open J Vet Med.* 2012;02(02):41-47. doi:10.4236/ojvm.2012.22007
55. Rathore K, Alexander M, Cekanova M. Piroxicam inhibits Masitinib-induced cyclooxygenase 2 expression in oral squamous cell carcinoma cells in vitro. *Transl Res.* 2014;164(2):158-168. doi:10.1016/j.trsl.2014.02.002
56. Impellizeri JA, Esplin DG. Expression of cyclooxygenase-2 in canine nasal carcinomas. *Vet J.* 2008;176(3):408-410. doi:10.1016/j.tvjl.2007.03.022
57. Campos M, Kool MMJ, Daminet S, et al. Upregulation of the PI3K/Akt Pathway in the Tumorigenesis of Canine Thyroid Carcinoma. *J Vet Intern Med.* 2014. doi:10.1111/jvim.12435
58. Campos M, Ducatelle R, Kooistra HS, et al. Immunohistochemical expression of potential therapeutic targets in canine thyroid carcinoma. *J Vet Intern Med.* 2014. doi:10.1111/jvim.12330
59. Eller DAH, Lifford CAC, Oldschmidt MHG, Olt DEH, Anfredi MJM, Orenmo KUS. BRIEF COMMUNICATIONS and CASE REPORTS Assessment of Cyclooxygenase-2 Expression in Canine Hemangiosarcoma ,. 2005;353:350-353.
60. Sehaber VF, Madureira R, Bracarense APFRL. Canine Cutaneous Haemangiosarcoma : Biomarkers and Survival. 2019;166:87-96. doi:10.1016/j.jcpa.2018.10.181
61. Millanta F, Asproni P, Cancedda S, Vignoli M, Bacci B, Poli A. Immunohistochemical Expression of COX-2, mPGES and EP2 Receptor in Normal and Reactive Canine Bone and in Canine Osteosarcoma. *J Comp Pathol.* 2012. doi:10.1016/j.jcpa.2012.02.003
62. Mullins MN, Lana SE, Dernel WS, Ogilvie GK, Withrow SJ, Ehrhart EJ. Cyclooxygenase-2 Expression in Canine Appendicular Osteosarcomas. 2004:859-865.
63. Pang LY, Gatenby EL, Kamida A, Whitelaw BA, Hupp TR, Argyle DJ. Global gene expression analysis of canine osteosarcoma stem cells reveals a novel role for COX-2 in tumour initiation. *PLoS One.* 2014. doi:10.1371/journal.pone.0083144
64. Nowak M, Madej JA, Dzięgiel P. Intensity of COX2 expression in cells of soft tissue fibrosarcomas in dogs as related to grade of tumour malignancy. *Bull Vet Inst Pulawy.* 2007;51(2):275-279.
65. Avallone G, Stefanello D, Boracchi P, et al. Growth Factors and COX2 Expression in Canine Perivascular Wall Tumors. *Vet Pathol.* 2015;52(6):1034-1040. doi:10.1177/0300985815575050
66. Pen C, Vilafranca M, Ramı G. Cyclooxygenase-2 Expression Is Related With Localization , Proliferation , and Overall Survival in Canine Melanocytic Neoplasms. 2011. doi:10.1177/0300985810396517
67. Gregório H, Raposo TP, Queiroga FL, Prada J, Pires I. Investigating associations of cyclooxygenase-2 expression with angiogenesis , proliferation , macrophage and T-lymphocyte infiltration in canine melanocytic tumours. 2016:338-347. doi:10.1097/CMR.0000000000000262
68. Kitanaka N, Nakano R, Kitanaka T, et al. NF-κB p65 and p105 implicate in interleukin 1b

mediated COX-2 expression in melanoma cells. 2018;17.

69. Pires I, Garcia A, Prada J, Queiroga FL. COX-1 and COX-2 expression in canine cutaneous, oral and ocular melanocytic tumours. *J Comp Pathol*. 2010. doi:10.1016/j.jcpa.2010.01.016
70. Paglia D, Dubielzig RR, Kado-fong HK, Maggs DJ. Expression of cyclooxygenase-2 in canine uveal melanocytic neoplasms. 2009;70(10).
71. Gregório H, Raposo T, Queiroga FL, Pires I, Pena L, Prada J. High COX-2 expression in canine mast cell tumours is associated with proliferation , angiogenesis and decreased overall survival. 2016;1382-1392. doi:10.1111/vco.12280
72. Vascellari M, Giantin M, Capello K, Carminato A, Morello EM. Expression of Ki67 , BCL-2 , and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors : Association With Grading and Prognosis. 2012;50(1):110-121. doi:10.1177/0300985812447829
73. Asproni P, Vignoli M, Cancedda S, Millanta F, Terragni R, Poli A. Immunohistochemical expression of cyclooxygenase-2 in normal, hyperplastic and neoplastic canine lymphoid tissues. *J Comp Pathol*. 2014. doi:10.1016/j.jcpa.2014.03.008
74. Rossmesl JH, Robertson JL, Zimmerman KL, Higgins MA, Geiger DA. Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in canine intracranial meningiomas. *Vet Comp Oncol*. 2009;7(3):173-180. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00188.x
75. Jankovsky JM, Newkirk KM, Ilha MR, Newman SJ. COX-2 and c-kit expression in canine gliomas. *Vet Comp Oncol*. 2013. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00302.x
76. Beam SL, Rassnick KM, Moore AS, McDonough SP. An IHC study of COX-2 expression in various feline neoplasms. *Vet Pathol*. 2003;40(5):496-500. doi:10.1354/vp.40-5-496
77. Sayasith K, Sirois J, Doré M. Molecular characterization of feline COX-2 and expression in feline mammary carcinomas. *Vet Pathol*. 2009. doi:10.1354/vp.08-VP-0161-D-FL
78. De Campos CB, Damasceno KA, Gamba CO, et al. Evaluation of prognostic factors and survival rates in malignant feline mammary gland neoplasms. *J Feline Med Surg*. 2016;18(12):1003-1012. doi:10.1177/1098612X15610367
79. Turek M, Oncology DA, Oncology AR. A REVIEW OF FELINE ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA A Review of Feline Oral Squamous Cell Carcinoma. 2016;(December).
80. Nasry W, Wang H, Jones K, et al. CD147 and Cyclooxygenase Expression in Feline Oral Squamous Cell Carcinoma. *Vet Sci*. 2018;5(3):72. doi:10.3390/vetsci5030072
81. Sparger EE, Murphy BG, Kamal FM, et al. Investigation of immune cell markers in feline oral squamous cell carcinoma. *Vet Immunol Immunopathol*. 2018;202:52-62. doi:10.1016/j.vetimm.2018.06.011
82. Saraiva AL, Payan-Carreira R, Gärtner F, et al. Immunohistochemical Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Feline Endometrial Adenocarcinoma and in Normal and Hyperplastic Endometria. *Reprod Domest Anim*. 2015;50(2):333-340. doi:10.1111/rda.12497
83. Santelices Iglesias OA, Wright C, Duchene AG, et al. Association between Degree of Anaplasia and Degree of Inflammation with the Expression of COX-2 in Feline Injection

Site Sarcomas. *J Comp Pathol*. 2018;165:45-51. doi:10.1016/j.jcpa.2018.09.002

84. Castro-López J, Ramis A, Planellas M, Teles M, Pastor J. Cyclooxygenase-2 immunoexpression in intestinal epithelium and lamina propria of cats with inflammatory bowel disease and low grade alimentary lymphoma. *BMC Vet Res*. 2018;14(1):1-9. doi:10.1186/s12917-018-1486-0
85. Samarani F, de la Fuente C, Parodi A, Mandara MT, Pumarola M, Añor S. Immunohistochemical expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) is not associated with tumor grade in feline meningiomas. *Vet J*. 2018;241:20-23. doi:10.1016/j.tvjl.2018.09.009
86. Sociedad Española de Reumatología. E. *Revista Española de Reumatología: Órgano Oficial de La Sociedad Española de Reumatología*. Vol 27. La Sociedad; 2000. <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-reumatologia-29-articulo-efectos-los-aine-sobre-mucosa-8543>. Accessed July 16, 2019.
87. Batlouni M. *Antiinflamatorios No Esteroides: Efectos Cardiovasculares, Cerebrovasculares y Renales.*; 2009.
88. Lara A. La terapia metronómica en oncología veterinaria. *R Vet Coll Hatfield, United Kingdom*. 2012.
89. De Nardi AB, Raposo TMM, Huppes RR, Daleck CR, Amorim RL. COX-2 inhibitors for cancer treatment in dogs. *Pak Vet J*. 2011;31(4):275-279.
90. Souza CHDM, Toledo-piza E, Amorin R, Barboza A, Tobias KM. Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. 2009;50(May).
91. Lavalley GE, De Campos CB, Bertagnolli AC, Cassali GD. Canine malignant mammary gland neoplasms with advanced clinical staging treated with carboplatin and cyclooxygenase inhibitors. *In Vivo*. 26(3):375-379. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22523289>. Accessed August 28, 2019.
92. Sonzogni-Desautels K, Knapp DW, Sartin E, Doré M. Effect of cyclooxygenase inhibitors in a xenograft model of canine mammary tumours. *Vet Comp Oncol*. 2011;9(3):161-171. doi:10.1111/j.1476-5829.2010.00242.x
93. Saito T, Tamura D, Asano R. Usefulness of selective COX-2 inhibitors as therapeutic agents against canine mammary tumors. *Oncol Rep*. 2014;31(4):1637-1644. doi:10.3892/or.2014.3010
94. Ettinger SJ, Edward C. Feldman. Textbook of Veterinary Internal Medicine, 7th Edition, Volume 2. *Book*. 2013;1:1504. [papers2://publication/uuid/3201B0B5-D8E5-4CBA-A42B-12352B03F233](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/publication/3201B0B5-D8E5-4CBA-A42B-12352B03F233).
95. Knapp DW, Henry CJ, Widmer WR, et al. Randomized Trial of Cisplatin versus Firocoxib versus Cisplatin/Firocoxib in Dogs with Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. *J Vet Intern Med*. 2013. doi:10.1111/jvim.12013
96. Bourn J, Cekanova M. Cyclooxygenase inhibitors potentiate receptor tyrosine kinase therapies in bladder cancer cells in vitro. *Drug Des Devel Ther*. 2018. doi:10.2147/DDDT.S158518

97. Schmidt BR, Glickman NW, DeNicola DB, de Gortari AE, Knapp DW. Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2001.
98. Boria PA, Murry DJ, Bennett PF, et al. Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2004;224(3):388-394. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14765798>. Accessed July 15, 2019.
99. Knapp DW, Richardson RC, Bottoms GD, Teclaw R, Chan TCK. Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1992;29(3):214-218. doi:10.1007/BF00686255
100. Kahn SA, Mullin CM, De Lorimier LP, et al. Doxorubicin and deracoxib adjuvant therapy for canine splenic hemangiosarcoma: A pilot study. *Can Vet J.* 2013.
101. Gardner HL, London CA, Portela RA, et al. Maintenance therapy with toceranib following doxorubicin-based chemotherapy for canine splenic hemangiosarcoma. *BMC Vet Res.* 2015. doi:10.1186/s12917-015-0446-1
102. Batschinski K, Nobre A, Vargas-Mendez E, et al. Canine visceral hemangiosarcoma treated with surgery alone or surgery and doxorubicin: 37 cases (2005-2014). *Can Vet J = La Rev Vet Can.* 2018;59(9):967-972. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30197439>. Accessed July 25, 2019.
103. London CA, Gardner HL, Mathie T, et al. Impact of toceranib/piroxicam/cyclophosphamide maintenance therapy on outcome of dogs with appendicular osteosarcoma following amputation and carboplatin chemotherapy: A multi-institutional study. *PLoS One.* 2015. doi:10.1371/journal.pone.0124889
104. Elmslie RE, Glawe P, Dow SW. Metronomic Therapy with Cyclophosphamide and Piroxicam Effectively Delays Tumor Recurrence in Dogs with Incompletely Resected Soft Tissue Sarcomas. 2008.
105. Seo K won, Coh Y rin, Rebhun RB, et al. Antitumor effects of celecoxib in COX-2 expressing and non-expressing canine melanoma cell lines. *Res Vet Sci.* 2014. doi:10.1016/j.rvsc.2014.03.003
106. Mutsaers AJ, Glickman NW, DeNicola DB, et al. Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2006. doi:10.2460/javma.2002.220.1813
107. Zmigrodzka M, Rzepecka A, Krzyzowska M, Witkowska-Pilasiewicz O, Cywinska A, Winnicka A. The cyclooxygenase-2/prostaglandin E 2 pathway and its role in the pathogenesis of human and dog hematological malignancies. *J Physiol Pharmacol.* 2018;69(5):653-661. doi:10.26402/jpp.2018.5.01
108. Borrego JF, Cartagena JC, Engel J. Treatment of feline mammary tumours using chemotherapy, surgery and a COX-2 inhibitor drug (meloxicam): A retrospective study of 23 cases (2002-2007). *Vet Comp Oncol.* 2009;7(4):213-221. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00194.x
109. Bilgic O, Duda L, Sánchez MD, Lewis JR. Feline Oral Squamous Cell Carcinoma: Clinical Manifestations and Literature Review. *J Vet Dent.* 2015;32(1):30-40. doi:10.1177/089875641503200104



110. Hayes AM, Adams VJ, Scase TJ, Murphy S. Survival of 54 cats with oral squamous cell carcinoma in United Kingdom general practice. *J Small Anim Pract.* 2007;48(7):394-399. doi:10.1111/j.1748-5827.2007.00393.x
111. Marconato L, Buchholz J, Keller M, Bettini G, Valenti P, Kaser-Hotz B. Multimodal therapeutic approach and interdisciplinary challenge for the treatment of unresectable head and neck squamous cell carcinoma in six cats: a pilot study. *Vet Comp Oncol.* 2013;11(2):101-112. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00304.x